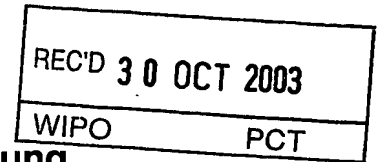




06. 10. 2003



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 102 39 308.7  
**Anmeldetag:** 27. August 2002  
**Anmelder/Inhaber:** BASF Aktiengesellschaft,  
Ludwigshafen/DE  
**Bezeichnung:** Verfahren zur fermentativen Herstellung von  
schwefelhaltigen Feinchemikalien  
**IPC:** C 12 P, C 07 C, A 23 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. September 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Erosig

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

Beschreibung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenzen exprimiert wird.

Stand der Technik

Schwefelhaltige Feinchemikalien, wie zum Beispiel Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, Glutathion, Cystein, Biotin, Thiamin, Liponsäure werden über natürliche Stoffwechselprozesse in Zellen hergestellt und werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließlich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Substanzen, die zusammen als "schwefelhaltige Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Vitamine und Cofaktoren. Ihre Produktion erfolgt am zweckmäßigsten im Großmaßstab mittels Anzucht von Bakterien, die entwickelt wurden, um große Mengen der jeweils gewünschten Substanz zu produzieren und sezernieren. Für diesen Zweck besonders geeignete Organismen sind coryneforme Bakterien, gram-positive nicht-pathogene Bakterien.

Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien, insbesondere *Corynebacterium glutamicum*, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen können fermentationstechnische Maßnahmen, wie zum Beispiel Rührung und Versorgung mit Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien, wie zum Beispiel die Zuckerkonzentration während der Fermentation, oder die Aufarbeitung zum Produkt, beispielsweise durch Ionenaustauschchromatographie, oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganismus selbst betreffen.

Über Stammselektion sind eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sortiment wünschenswerter Verbindungen aus der Reihe der schwefelhaltigen Feinchemikalien produzieren. Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen hinsichtlich der Produktion eines bestimmten Moleküls werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mutantenauswahl angewendet. Dies ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren. Auf diese Weise erhält man z.B. Stämme, die resistent gegen Antimetabolite, wie z. B. die Methionin-Analoga  $\alpha$ -Methyl-Methionin, Ethionin, Norleucin, N-Acetylnorleucin, S-Trifluoromethylhomocystein, 2-Amino-5-heptenolensäure, Seleno-Methionin, Methioninsulfoximin,

Methoxin, 1-Aminocyclopentan-Carboxylsäure oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und schwefelhaltige Feinchemikalien, wie z. B. L-Methionin, produzieren.

5 Seit einigen Jahren werden ebenfalls Methoden der rekombinanten DNA-Technik zur Stammverbesserung von L-Aminosäure produzierender Stämme von Corynebacterium eingesetzt, indem man einzelne Aminosäure-Biosynthesegene amplifiziert und die Auswirkung auf die Aminosäure-Produktion untersucht.

#### Kurze Beschreibung der Erfindung

10

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur verbesserten fermentativen Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, bereitzustellen.

15

Gelöst wird obige Aufgabe durch Bereitstellung eines Verfahrens zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, umfassend die Expression einer heterologen Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, in einem coryneformen Bakterium.

20

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie, welche vorzugsweise L-Methionin umfasst.

30

Vorzugsweise besitzt obige heterologe metF-kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus Corynebacterium glutamicum ATCC 13032 eine Sequenzhomologie von weniger als 100%, wie z.B. mehr als 70%, wie 75, 80, 85, 90 oder 95 %, oder weniger als 70%, wie z.B. bis zu 60, 50, 40, 30, 20 oder 10 %. Die metF-kodierende Sequenz ist vorzugsweise aus einem der folgenden Organismen von Liste I abgeleitet:

35

Liste I

| <b>Organismus</b>                           | <b>Stammsammlung</b> |
|---|----------------------|
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i>          | ATCC 14779           |
| <i>Streptomyces lividans</i>                | ATCC 19844           |
| <i>Streptomyces coelicolor</i>              | ATCC 10147           |
| <i>Aquifex aeolicus</i>                     | DSM 6858             |
| <i>Burkholderia cepacia</i>                 | ATCC 25416           |
| <i>Nitrosomonas europaea</i>                | ATCC 19718           |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>               | ATCC 17933           |
| <i>Xylella fastidiosa</i>                   | ATCC 35881           |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i>              | ATCC 13525           |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i>            | ATCC 24969           |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>             | ATCC 10751           |
| <i>Erwinia carotovora</i>                   | ATCC 15713           |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>                | ATCC 700721          |
| <i>Salmonella typhi</i>                     | ATCC 12839           |
| <i>Salmonella typhimurium</i>               | ATCC 15277           |
| <i>Escherichia coli</i> K12                 | ATCC55151            |
| <i>Vibrio cholerae</i>                      | ATCC 39315           |
| <i>Haemophilus influenzae</i>               | ATCC 51907           |
| <i>Caulobacter crescentus</i>               | ATCC 19089           |
| <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | ATCC 33384           |
| <i>Neisseria meningitis</i>                 | ATCC 6253            |
| <i>Rhodobacter capsulatus</i>               | ATCC 11166           |
| <i>Campylobacter jejuni</i>                 | ATCC 33560           |
| <i>Lactococcus lactis</i>                   | ATCC 7962            |
| <i>Prochlorococcus marinus</i>              | PCC7118              |
| <i>Bacillus stearothermophilus</i>          | ATCC 12980           |

- 5 ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA  
PCC: Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria. Paris Frankreich  
DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

10 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz umfasst vorzugsweise eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.

15 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz kodiert außerdem vorzugsweise für ein Protein mit metF-Aktivität, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52

und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht, umfasst.

- 5 Die kodierende metF-Sequenz ist vorzugsweise eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt, indem man

- 10 a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder  
b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde.

- 15 Es ist weiterhin bevorzugt, die kodierende metF-Sequenz für die Fermentation zu überexprimieren.

- 20 Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist; und / oder  
in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie durch Stoffwechselmetabolite in seiner Aktivität nicht in unerwünschter Weise beeinflusst wird.

- 30 Gemäß einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deshalb coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- 35 a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,  
b) dem für eine Aspartat-Semialdehyd-Dehydrogenase kodierenden Gen asd  
c) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,  
d) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,  
e) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,  
f) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,

- 5
- g) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen metA,
  - h) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
  - i) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
  - j) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
  - k) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierenden Gen metY,
  - l) dem für die Methionin Synthase kodierenden Gen meth,
  - m) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodieren Gen serC
  - n) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodieren Gen serB,
  - o) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodieren Gen cysE,
  - 10 p) dem für die Homoserin-Dehydrogenase kodieren Gen hom,
- überexprimiert ist.

15 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene ausgewählt unter Genen der oben genannten Gruppe a) bis p) mutiert ist, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden und dass insbesondere die erfindungsgemäße Produktion der Feinchemikalie nicht beeinträchtigt wird.

20 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- q) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
- r) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
- s) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
- t) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
- u) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
- v) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgj,
- w) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
- x) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,
- 30 y) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen dapB; oder
- z) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen lysA

abschwächt ist, insbesondere durch Verringerung der Expressionsrate des korrespondierenden Gens.

35 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene der obigen Gruppen

q) bis z) mutiert ist, so dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird.

Vorzugsweise werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* eingesetzt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin-haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst

- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
- b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
- c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
- d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

Gegenstand der Erfindung sind ebenfalls die erstmalig aus obigen Mikroorganismen isolierten kodierenden metF-Sequenzen, die davon kodierten metF-Enzyme sowie die funktionalen Homologen dieser Polynukleotide bzw. Proteine.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

##### a) Allgemeine Begriffe

Als Proteine mit der Aktivität der Methylentetrahydrofolat-Reduktase werden solche Proteine beschrieben, die in der Lage sind 5,10-Methylenetetrahydrofolat ( $\text{CH}_2\text{-H(4)Folat}$ ) unter Oxidation des Cofaktors NADH oder NADPH zu 5-Methyltetrahydrofolat ( $\text{CH}_3\text{-H(4)Folat}$ ) zu reduzieren.

Dem Fachmann sind weitere Details des metF Proteins bekannt: (Matthews RG. Sheppard C. Goulding C. European Journal of Pediatrics. 157 Suppl 2:S54-9, 1998, Trimmer EE. Ballou DP. Matthews RG. Biochemistry. 40(21):6205-15, 2001). Der Fachmann kann die enzymatische Aktivität von metF durch Enzymtests nachweisen, Vorschriften dafür können sein: Matthews, R.G., Methylentetrahydrofolate reductase from pig liver. Methods in Enzymology. 122:372-81, 1986.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff „schwefelhaltige Feinchemikalie“ jegliche chemische Verbindung, die wenigstens ein Schwefelatom kovalent gebunden enthält

und durch ein erfindungsgemäßes Fermentationsverfahrens zugänglich ist. Nichtlimitierende Beispiele dafür sind Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, insbesondere Methionin, und S-Adenosyl-Methionin.

- 5 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfassen die Begriffe „L-Methionin“, „Methionin“, Homocystein und S-Adenosylmethionin auch die korrespondierenden Salze, wie z. B. Methionin-Hydrochlorid oder Methionin-Sulfat.

- 10 "Polynukleotide" bezeichnet im allgemeinen Polyribonukleotide (RNA) und Polydeoxyribonukleotide (DNA), wobei es sich um nicht modifizierte RNA oder DNA oder modifizierte RNA oder DNA handeln kann.

Unter "Polypeptiden" versteht man erfindungsgemäß Peptide oder Proteine, die zwei oder mehr über Peptidbindungen verbundene Aminosäuren enthalten.

15

Der Begriff „Stoffwechselmetabolit“ bezeichnet chemische Verbindungen, die im Stoffwechsel von Organismen als Zwischen- oder auch Endprodukte vorkommen und die neben ihrer Eigenschaft als chemische Bausteine auch modulierende Wirkung auf Enzyme und ihre katalytische Aktivität haben können. Dabei ist aus der Literatur bekannt, dass solche Stoffwechselmetabolite sowohl hemmend als auch stimulierend auf die Aktivität von Enzymen wirken können (Biochemistry, Stryer, Lubert, 1995 W. H. Freeman & Company, New York, New York.). In der Literatur ist auch beschrieben, dass es möglich ist durch Maßnahmen wie Mutation der genomischen DNA durch UV-Strahlung, ionisierender Strahlung oder mutagene Substanzen und nachfolgender Selektion auf bestimmte Phänotypen in Organismen solche Enzyme zu produzieren, in denen die Beeinflussung durch Stoffwechselmetabolite verändert wurde (Sahm H. Eggeling L. de Graaf AA. Biological Chemistry 381(9-10):899-910, 2000; Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94). Diese veränderten Eigenschaften können auch durch gezielte Maßnahmen erreicht werden. Dabei ist dem Fachmann bekannt, dass in Gene für Enzyme auch gezielt bestimmte Nukleotide der für das Protein kodierenden DNA so zu verändern, dass das aus der exprimierten DNA-Sequenz resultierende Protein bestimmte neue Eigenschaften aufweist, so zum Beispiel, dass die modulierende Wirkung von Stoffwechselmetaboliten gegenüber dem nicht veränderten Protein verändert ist

30

Enzyme können derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit, oder zu einer Veränderung der Affinität gegenüber dem Substrat oder zu einer Änderung der Reaktionsgeschwindigkeiten.

35



Die Begriffe "exprimieren" bzw. "Verstärkung" oder „Überexpression“ beschreiben im Kontext der Erfindung die Produktion bzw. Erhöhung der intrazellulären Aktivität eines oder mehrerer Enzyme in einem Mikroorganismus, die durch die entsprechende DNA kodiert werden. Dazu kann man beispielsweise ein Gen in einen Organismus einbringen, ein vorhandenes Gen durch ein  
5 anderes Gen ersetzen, die Kopienzahl des Gens bzw. der Gene erhöhen, einen starken Promotor verwenden oder ein Gen verwenden, das für ein entsprechendes Enzym mit einer hohen Aktivität kodiert und man kann gegebenenfalls diese Maßnahmen kombinieren.

b) Erfindungsgemäße metF-Proteine

10 Erfindungsgemäß mit umfasst sind ebenfalls „funktionale Äquivalente“ der konkret offenbarten metF-Enzyme aus Organismen obiger Liste I.

„Funktionale Äquivalente“ oder Analoga der konkret offenbarten Polypeptide sind im Rahmen  
15 der vorliegenden Erfindung davon verschiedene Polypeptide, welche weiterhin die gewünschte biologische Aktivität, wie z.B. Substratspezifität, besitzen.

Unter "funktionalen Äquivalenten" versteht man erfindungsgemäß insbesondere Mutanten, welche in wenigstens einer der oben genannten Sequenzpositionen eine andere als die konkret  
20 genannte Aminosäure aufweisen aber trotzdem eine der oben genannten biologische Aktivität besitzen. "Funktionale Äquivalente" umfassen somit die durch eine oder mehrere Aminosäure-Additionen, -Substitutionen, -Deletionen und/oder -Inversionen erhältlichen Mutanten, wobei die genannten Veränderungen in jeglicher Sequenzposition auftreten können, solange sie zu einer Mutante mit dem erfindungsgemäßen Eigenschaftsprofil führen. Funktionale Äquivalenz ist insbesondere auch dann gegeben, wenn die Reaktivitätsmuster zwischen Mutante und unverändertem Polypeptid qualitativ übereinstimmen, d.h. beispielsweise gleiche Substrate mit unterschiedlicher Geschwindigkeit umgesetzt werden.

"Funktionale Äquivalente" umfassen natürlich auch Polypeptide welche aus anderen Organismen zugänglich sind, sowie natürlich vorkommende Varianten. Beispielsweise lassen sich durch  
30 Sequenzvergleich Bereiche homologer Sequenzregionen festlegen und in Anlehnung an die konkreten Vorgaben der Erfindung äquivalente Enzyme ermitteln.

„Funktionale Äquivalente“ umfassen ebenfalls Fragmente, vorzugsweise einzelne Domänen oder Sequenzmotive, der erfindungsgemäßen Polypeptide, welche z.B. die gewünschte biologische Funktion aufweisen.  
35

„Funktionale Äquivalente“ sind außerdem Fusionsproteine, welche ein der oben genannten Polypeptidsequenzen oder davon abgeleitete funktionale Äquivalente und wenigstens eine weitere, davon funktionell verschiedene, heterologe Sequenz in funktioneller N- oder C-terminaler Verknüpfung (d.h. ohne gegenseitigen wesentliche funktionelle Beeinträchtigung der Fusionsproteinteile) aufweisen. Nichtlimitierende Beispiele für derartige heterologe Sequenzen sind z.B. Signalpeptide, Enzyme, Immunoglobuline, Oberflächenantigene, Rezeptoren oder Rezeptorliganden.

Erfindungsgemäß mit umfasste „funktionale Äquivalente“ sind Homologe zu den konkret offenbarten Proteinen. Diese besitzen wenigstens 30%, oder etwa 40%, 50 %, vorzugsweise wenigstens etwa 60 %, 65%, 70%, oder 75% ins besondere wenigsten 85 %, wie z.B. 90%, 95% oder 99%, Homologie zu einer der konkret offenbarten Sequenzen, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85(8), 1988, 2444-2448.

Homologe der erfindungsgemäßen Proteine oder Polypeptide können durch Mutagenese erzeugt werden, z.B. durch Punktmutation oder Verkürzung des Proteins. Der Begriff „Homolog“, wie er hier verwendet wird, betrifft eine variante Form des Proteins, die als Agonist oder Antagonist der Protein-Aktivität wirkt.

Homologe des erfindungsgemäßen Proteine können durch Screening kombinatorischer Banken von Mutanten, wie z.B. Verkürzungsmutanten, identifiziert werden. Beispielsweise kann eine variierte Bank von Protein-Varianten durch kombinatorische Mutagenese auf Nukleinsäureebene erzeugt werden, wie z.B. durch enzymatisches Ligieren eines Gemisches synthetischer Oligonukleotide. Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, die zur Herstellung von Banken potentieller Homologer aus einer degenerierten Oligonukleotidsequenz verwendet werden können. Die chemische Synthese einer degenerierten Gensequenz kann in einem DNA-Syntheseautomaten durchgeführt werden, und das synthetische Gen kann dann in einen geeigneten Expressionsvektor ligiert werden. Die Verwendung eines degenerierten Gensatzes ermöglicht die Bereitstellung sämtlicher Sequenzen in einem Gemisch, die den gewünschten Satz an potentiellen Proteinsequenzen codieren. Verfahren zur Synthese degenerierter Oligonukleotide sind dem Fachmann bekannt (Z.B. Narang, S.A. (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., (1984) Science 198:1056; Ike et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477).

Zusätzlich können Banken von Fragmenten des Protein-Codons verwendet werden, um eine variierte Population von Protein-Fragmenten zum Screening und zur anschließenden Selektion von Homologen eines erfindungsgemäßen Proteins zu erzeugen. Bei einer Ausführungsform kann eine Bank von kodierenden Sequenzfragmenten durch Behandeln eines doppelsträngigen

PCR-Fragmentes einer kodierenden Sequenz mit einer Nuklease unter Bedingungen, unter denen ein Nicking nur etwa einmal pro Molekül erfolgt, Denaturieren der doppelsträngigen DNA, Renaturieren der DNA unter Bildung doppelsträngiger DNA, die Sense-/Antisense-Paare von verschiedenen genickten Produkten umfassen kann, Entfernen einzelsträngiger Abschnitte aus neu gebildeten Duplices durch Behandlung mit S1-Nuclease und Ligieren der resultierenden Fragmentbank in einen Expressionsvektor erzeugt werden. Durch dieses Verfahren kann eine Expressionsbank hergeleitet werden, die N-terminale, C-terminale und interne Fragmente mit verschiedenen Größen des erfindungsgemäßen Proteins kodiert.

Im Stand der Technik sind mehrere Techniken zum Screening von Genprodukten kombinatorischer Banken, die durch Punktmutationen oder Verkürzung hergestellt worden sind, und zum Screening von cDNA-Banken auf Genprodukte mit einer ausgewählten Eigenschaft bekannt. Diese Techniken lassen sich an das schnelle Screening der Genbanken anpassen, die durch kombinatorische Mutagenese von erfindungsgemäßer Homologer erzeugt worden sind. Die am häufigsten verwendeten Techniken zum Screening großer Genbanken, die einer Analyse mit hohem Durchsatz unterliegen, umfassen das Klonieren der Genbank in replizierbare Expressionsvektoren, Transformieren der geeigneten Zellen mit der resultierenden Vektorenbank und Exprimieren der kombinatorischen Gene unter Bedingungen, unter denen der Nachweis der gewünschten Aktivität die Isolation des Vektors, der das Gen codiert, dessen Produkt nachgewiesen wurde, erleichtert. Recursive-Ensemble-Mutagenese (REM), eine Technik, die die Häufigkeit funktioneller Mutanten in den Banken vergrößert, kann in Kombination mit den Screeningtests verwendet werden, um Homologe zu identifizieren (Arkin und Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3):327-331

c) Erfindungsgemäße Polynukleotide

Gegenstand der Erfindung sind ebenso Nukleinsäuresequenzen (einzeln- und doppelsträngige DNA- und RNA-Sequenzen, wie z.B. cDNA und mRNA), kodierend für eines der obigen metF-Enzyme und deren funktionalen Äquivalenten, welche z.B. auch unter Verwendung künstlicher Nukleotidanaloga zugänglich sind.

Die Erfindung betrifft sowohl isolierte Nukleinsäuremoleküle, welche für erfindungsgemäße Polypeptide bzw. Proteine oder biologisch aktive Abschnitte davon kodieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die z.B. zur Verwendung als Hybridisierungs sonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von erfindungsgemäßer kodierenden Nukleinsäuren verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem untranslatierte Sequenzen vom 3'- und/oder 5'-Ende des kodierenden Genbereichs enthalten

Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind und kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techniken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

Die Erfindung umfasst weiterhin die zu den konkret beschriebenen Nukleotidsequenzen komplementären Nukleinsäuremoleküle oder einen Abschnitt davon.

Die erfindungsgemäß Nukleotidsequenzen ermöglichen die Erzeugung von Sonden und Primern, die zur Identifizierung und/oder Klonierung von homologer Sequenzen in anderen Zelltypen und Organismen verwendbar sind. Solche Sonden bzw. Primer umfassen gewöhnlich einen Nukleotidsequenzbereich, der unter stringenten Bedingungen an mindestens etwa 12, vorzugsweise mindestens etwa 25, wie z.B. etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgende Nukleotide eines Sense-Stranges einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz oder eines entsprechenden Antisense-Stranges hybridisiert.

Weitere erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenzen sind abgeleitet von SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 oder 53 und unterscheiden sich davon durch Addition, Substitution, Insertion oder Deletion einzelner oder mehrerer Nukleotide, kodieren aber weiterhin für Polypeptide mit dem gewünschten Eigenschaftsprofil. Dies können Polynukleotide sein, die zu obigen Sequenzen in mindestens etwa 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80% oder 90%, vorzugsweise in mindestens etwa 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% der Sequenzpositionen identisch sind.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch solche Nukleinsäuresequenzen, die sogenannte stumme Mutationen umfassen oder entsprechend der Codon-Nutzung eines speziellen Ursprungs- oder Wirtsorganismus, im Vergleich zu einer konkret genannten Sequenz verändert sind, ebenso wie natürlich vorkommende Varianten, wie z.B. Spleißvarianten oder Allelvarianten, davon. Gegenstand sind ebenso durch konservative Nukleotidsubstitutionen (d.h. die betreffende Aminosäure wird durch eine Aminosäure gleicher Ladung, Größe, Polarität und/oder Löslichkeit ersetzt) erhältliche Sequenzen.

Gegenstand der Erfindung sind auch die durch Sequenzpolymorphismen von den konkret offenbarten Nukleinsäuren abgeleiteten Moleküle. Diese genetischen Polymorphismen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund der natürlichen Variation existieren. Diese natürlichen Variationen bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz eines Gens.

Weiterhin umfasst die Erfindung auch Nukleinsäuresequenzen, welchen mit oben genannten kodierenden Sequenzen hybridisieren oder dazu komplementär sind. Diese Polynukleotide lassen sich bei Durchmusterung von genomischen oder cDNA-Banken auffinden und gegebenenfalls daraus mit geeigneten Primern mittels PCR vermehren und anschließend beispielsweise mit geeigneten Sonden isolieren. Eine weitere Möglichkeit bietet die Transformation geeigneter Mikroorganismen mit erfindungsgemäßen Polynukleotiden oder Vektoren, die Vermehrung der Mikroorganismen und damit der Polynukleotide und deren anschließende Isolierung. Darüber hinaus können erfindungsgemäße Polynukleotide auch auf chemischem Wege synthetisiert werden.

Unter der Eigenschaft, an Polynukleotide „hybridisieren“ zu können, versteht man die Fähigkeit eines Poly- oder Oligonukleotids unter stringenten Bedingungen an eine nahezu komplementäre Sequenz zu binden, während unter diesen Bedingungen unspezifische Bindungen zwischen nicht-komplementären Partnern unterbleiben. Dazu sollten die Sequenzen zu 70-100%, vorzugsweise zu 90-100%, komplementär sein. Die Eigenschaft komplementärer Sequenzen, spezifisch aneinander binden zu können, macht man sich beispielsweise in der Northern- oder Southern-Blot-Technik oder bei der Primerbindung in PCR oder RT-PCR zunutze. Üblicherweise werden dazu Oligonukleotide ab einer Länge von 30 Basenpaaren eingesetzt. Unter stringenten Bedingungen versteht man beispielsweise in der Northern-Blot-Technik die Verwendung einer 50 – 70 °C, vorzugsweise 60 – 65 °C warmen Waschlösung, beispielsweise 0,1x SSC-Puffer mit 0,1% SDS (20x SSC: 3M NaCl, 0,3M Na-Citrat, pH 7,0) zur Elution unspezifisch hybridisierter cDNA-Sonden oder Oligonukleotide. Dabei bleiben, wie oben erwähnt, nur in hohem Maße komplementäre Nukleinsäuren aneinander gebunden. Die Einstellung stringenter Bedingungen ist dem Fachmann bekannt und ist z.B. in Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

c) Isolierung der kodierenden metF-Gene

Die für das Enzym Methylentetrahydrofolat Reduktase kodierenden metF-Gene aus den Organismen obiger Liste I sind in an sich bekannter Weise isolierbar.

Zur Isolierung der metF-Gene oder auch anderer Gene der Organismen aus obiger Liste I wird zunächst eine Genbank dieses Organismus in Escherichia coli (E. coli) angelegt. Das Anlegen von Genbanken ist in allgemein bekannten Lehrbüchern und Handbüchern ausführlich beschrieben. Als Beispiel seien das Lehrbuch von Winnacker: Gene und Klone, Eine Einführung in die Gentechnologie (Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1990), oder das Handbuch von Sambrook et al.: Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) genannt. Eine sehr bekannte Genbank ist die des E. coli K-12 Stammes W3110, die von Kohara et al. (Cell 50, 495-508 (198)) in  $\lambda$ -Vektoren angelegt wurde.

- 10 Zur Herstellung einer Genbank von Organismen der Liste I in E. coli können Cosmide, wie der Cosmidvektor SuperCos I (Wahl et al., 1987, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 84: 2160-2164), aber auch Plasmide, wie pBR322 (BoliVal; Life Sciences, 25, 807-818 (1979)) oder pUC9 (Vieira et al., 1982, Gene, 19: 259-268), verwendet werden. Als Wirte eignen sich besonders solche E. coli Stämme, die restriktions- und rekombinationsdefekt sind. Ein Beispiel hierfür ist der Stamm DH5 $\alpha$ mc $r$ , der von Grant et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87 (1990) 4645-4649) beschrieben wurde. Die mit Hilfe von Cosmiden klonierten langen DNA-Fragmente können anschließend wiederum in gängige, für die Sequenzierung geeignete Vektoren subkloniert und anschließend sequenziert werden, so wie es z. B. bei Sanger et al. (proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74: 5463-5467, 1977) beschrieben ist.

Die erhaltenen DNA-Sequenzen können dann mit bekannten Algorithmen bzw. Sequenzanalyse-Programmen, wie z. B. dem von Staden (Nucleic Acids Research 14, 217-232 (1986)), dem von Marck (Nucleic Acids Research 16, 1829-1836 (1988)) oder dem GCG-Programm von Butler (Methods of Biochemical Analysis 39, 74-97 (1998)), untersucht werden.

- 30 Die für die metF-Gene kodierenden DNA-Sequenzen von Organismen gemäß obiger Liste I wurde gefunden. Insbesondere wurden DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53. Weiterhin wurde aus diesen vorliegenden DNA-Sequenzen mit den oben beschriebenen Methoden die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Proteine abgeleitet. Durch SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 sind die sich ergebenden Aminosäuresequenzen der metF-Genprodukte dargestellt.

- 35 Kodierende DNA-Sequenzen, die sich aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 durch die Degeneration des genetischen Kodes ergeben, sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. In glei-

cher Weise sind DNA-Sequenzen, die mit diesen Sequenzen oder davon abgeleiteten Sequenzteilen hybridisieren, Gegenstand der Erfindung.

5 Anleitungen zur Identifizierung von DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung findet der Fachmann unter anderem im Handbuch "The DIG System Users Guide für Filter Hybridization" der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland, 1993) und bei Liebl et al. (International Journal of Systematic Bacteriology (1991) 41: 255-260). Anleitungen zur Amplifikation von DNA-Sequenzen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) findet der Fachmann unter anderem im Handbuch von Gait: Oligonukleotide synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford, 10 UK, 1984) und bei Newton und Graham: PCR (Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, 1994).

15 Weiterhin ist bekannt, dass Änderungen am N- und/oder C- Terminus eines Proteins dessen Funktion nicht wesentlich beeinträchtigen oder sogar stabilisieren können. Angaben hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Ben-Bassat et al. (Journal of Bacteriology 169: 751-757 (1987)), bei O'Regan et al. (Gene 77: 237-251 (1989), bei Sahin-Toth et al. (Protein Sciences 3: 240-247 (1994)), bei Hochuli et al. (Bionotechnology 6: 1321-1325 (1988)) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

20 Aminosäuresequenzen, die sich in entsprechender Weise aus den SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 ergeben, sind ebenfalls Bestandteil der Erfindung.

d) Erfindungsgemäß verwendete Wirtszellen

30 Weitere Gegenstände der Erfindung betreffen als Wirtszelle dienende Mikroorganismen, insbesondere coryneforme Bakterien, die einen Vektor, insbesondere Pendelvektor oder Plasmidvektor, der wenigstens ein metF-Gen erfindungsgemäßer Definition trägt, enthalten oder in denen ein erfindungsgemäßes metF-Gen exprimiert bzw. verstärkt ist.

35 Diese Mikroorganismen können schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, aus Glucose, Saccharose, Lactose, Fructose, Maltose, Melasse, Stärke, Cellulose oder aus Glycerin und Ethanol herstellen. Vorzugsweise sind dies coryneforme Bakterien, insbesondere der Gattung Corynebacterium. Aus der Gattung Corynebacterium ist insbesondere die Art Corynebacterium glutamicum zu nennen, die in der Fachwelt für ihre Fähigkeit bekannt ist, L-Aminosäuren zu produzieren.

Als Beispiele für geeignete Stämme coryneformer Bakterien sind solche der Gattung *Corynebacterium*, insbesondere der Art *Corynebacterium glutamicum* (*C. glutamicum*), wie

*Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032,

*Corynebacterium acetoglutamicum* ATCC 15806,

5 *Corynebacterium acetoacidophilum* ATCC 13870,

*Corynebacterium thermoaminogenes* FERM BP-1539,

*Corynebacterium melassecola* ATCC 17965

oder

10 der Gattung *Brevibacterium*, wie

*Brevibacterium flavum* ATCC 14067

*Brevibacterium lactofermentum* ATCC 13869 und

*Brevibacterium divaricatum* ATCC 14020 zu nennen;

oder davon abgeleitete Stämme, wie

15 *Corynebacterium glutamicum* KFCC10065

*Corynebacterium glutamicum* ATCC21608

welche ebenfalls die gewünschte Feinchemikalie oder deren Vorstufe(n) produzieren.

20 Mit der Abkürzung KFCC ist die Korean Federation of Culture Collection gemeint, mit der Abkürzung ATCC die American type strain culture collection, mit der Abkürzung FERM BP die Sammlung des National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Japan bezeichnet.

e) Durchführung der erfindungsgemäßen Fermentation

Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass coryneforme Bakterien nach Überexpression eines metF-Gens aus Organismen der Liste I in vorteilhafter Weise schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, produzieren.

30

Zur Erzielung einer Überexpression kann der Fachmann unterschiedliche Maßnahmen einzeln oder in Kombination ergreifen. So kann die Kopienzahl der entsprechenden Gene erhöht werden, oder es kann die Promotor- und Regulationsregion oder die Ribosomenbindungsstelle, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden. In gleicher Weise wirken Expressionskassetten, die stromaufwärts des Strukturgens eingebaut werden. Durch induzierbare Promotoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Methionin-Produktion zu steigern. Durch Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensdauer der mRNA wird

35



ebenfalls die Expression verbessert. Weiterhin wird durch Verhinderung des Abbaus des Enzymproteins ebenfalls die Enzymaktivität verstärkt. Die Gene oder Genkonstrukte können entweder in Plasmiden mit unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen oder im Chromosom integriert und amplifiziert sein. Alternativ kann weiterhin eine Überexpression der betreffenden Gene durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden.

Anleitungen hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Biotechnology 5, 137-146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35-41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93-98 (1991)), in der Europäischen Patentschrift 0472869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Biotechnology 9, 84-87 (1991)), bei Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), in der Patentanmeldung WO 96/15246, bei Malumbres et al. (Gene 134, 15-24 (1993)), in der japanischen Offenlegungsschrift JP-A-10-229891, bei Jensen und Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), bei Makrides (Microbiological Reviews 60 : 512-538 (1996)) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch Expressionskonstrukte, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte. Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit der kodierenden Sequenz. Unter einer „operativen Verknüpfung“ versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann. Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Aktivierungssequenzen sowie Enhancer und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen. Geeignete regulatorische Sequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Strukturgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt

es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren sind: die Promotoren, *ddh*, *amy*, *lysC*, *dapA*, *lysA* aus *Corynebacterium glutamicum*, aber auch gram-positiven Promotoren *SPO2* wie sie in *Bacillus Subtilis* and Its Closest Relatives, Sonenshein, Abraham L., Hoch, James A., Losick, Richard; ASM Press, District of Columbia, Washington und Patek M. Eikmanns B.J. Patek J. Sahm H. Microbiology. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch *cos*-, *tac*-, *trp*-, *tet*-, *trp-tet*-, *lpp*-, *lac*-, *lpp-lac*-, *lacIq*-, *T7*-, *T5*-, *T3*-, *gal*-, *trc*-, *ara*-, *SP6*-, *l-PR*- oder im *l-PL*-Promotor, die vorteilhafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Bevorzugt ist auch die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer Promotoren, wie der *P<sub>l</sub>P<sub>r</sub>*-Promotor. Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promotors, einer geeigneten Shine-Dalgarno-Sequenz mit einer *metF*-Nukleotidsequenz sowie einem geeigneten Terminationssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, 1993, John Wiley & Sons, Incorporated, New York New York, PCR Methods, Gelfand, David H., Innis, Michael A., Sninsky, John J. 1999, Academic Press, Incorporated, California, San Diego, ., PCR Cloning Protocols, Methods in Molecular Biology Ser., Vol. 192, 2nd ed., Humana Press, New

Jersey, Totowa. T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor insertiert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannten Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

Zur Verstärkung wurden erfindungsgemäße metF-Gene beispielhaft mit Hilfe von episomalen Plasmiden überexprimiert. Als Plasmide eignen sich solche, die in coryneformen Bakterien repliziert werden. Zahlreiche bekannte Plasmidvektoren, wie z. B. pZ1 (Menkel et al., Applied and Environmental Microbiology (1989) 64: 549-554), pEKEx1 (Eikmanns et al., Gene 102: 93-98 (1991)) oder pHS2-1 (Sonnen et al., Gene 107: 69-74 (1991)) beruhen auf den kryptischen Plasmiden pHM1519, pBL1 oder pGA1. Andere Plasmidvektoren, wie z. B. pCLiK5MCS, oder solche, die auf pCG4 (US-A 4,489,160) oder pNG2 (Serwold-Davis et al., FEMS Microbiology Letters 66, 119-124 (1990)) oder pAG1 (US-A 5,158,891) beruhen, können in gleicher Weise verwendet werden.

Weiterhin eignen sich auch solche Plasmidvektoren mit Hilfe derer man das Verfahren der Genamplifikation durch Integration in das Chromosom anwenden kann, so wie es beispielsweise von Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)) zur Duplikation bzw. Amplifikation des hom-thrB-Operons beschrieben wurde. Bei dieser Methode wird das vollständige Gen in einen Plasmidvektor kloniert, der in einem Wirt (typischerweise E. coli), nicht aber in C. glutamicum replizieren kann. Als Vektoren kommen beispielsweise pSUP301 (Simon et al., Bio/ Technology 1, 784-791 (1983)), pK18mob oder pK19mob (Schäfer et al., Gene 145, 69-73 (1994)), Bernard et al., Journal of Molecular Biology, 234: 534-541 (1993)), pEM1 (Schrumpf et al. 1991, Journal of Bacteriology 173: 4510-4516) oder pBGS8 (Spratt et al., 1986, Gene 41: 337-342) in Frage. Der Plasmidvektor, der das zu amplifizierende Gen enthält, wird anschließend durch Transformation in den gewünschten Stamm von C. glutamicum überführt. Methoden zur Transformation sind beispielsweise bei Thierbach et al. (Applied Microbiology and

Biotechnology 29, 356-362 (1988)), Dunican und Shivnan (Biotechnology 7, 1067-1070 (1989)) und Tauch et al. (FEMS Microbiological Letters 123,343-347 (1994)) beschrieben.

Enzyme können durch Mutationen in den korrespondierenden Genen derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer teilweisen oder vollständigen Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion kommt. Beispiele für solche Mutationen sind dem Fachmann bekannt (Motoyama H. Yano H. Terasaki Y. Anazawa H. Applied & Environmental Microbiology. 67:3064-70, 2001, Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94.)

Zusätzlich kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben einer Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metF-Gen eines oder mehrere Enzyme des jeweiligen Biosyntheseweges, des Cystein-Stoffwechselwegs, der Aspartatsemialdehyd-Synthese, der Glykolyse, der Anaplerotik, des Pentose-Phosphat-Stoffwechsels, des Zitronensäure-Zyklus oder des Aminosäure-Exports zu verstärken.

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, eines oder mehrere der folgenden Gene verstärkt sein:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),
- das für eine Aspartat-Semialdehyd kodierende Gen asd (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 282),
- das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen gap (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen pgk (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen tpi (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen metA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),
- das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),
- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),
- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen glyA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ

NO. 1110),

- das für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierende Gen metY (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen meth (EP 1 108 790 A2),

5 - das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen serC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen cysE (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)

10

- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin in coryneformen Bakterien, vorteilhaft sein, gleichzeitig wenigstens eines der nachfolgenden Gene zu mutieren, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch einen Stoffwechselmetaboliten in ihrer Aktivität beeinflusst werden:

15

20

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),

- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen metA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),

- das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen glyA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

30

- das für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierende Gen metY (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen meth (EP 1 108 790 A2),

- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen serC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

35

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen *cysE* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)
- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen *hom* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

5

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen *metF*-Gene eines oder mehrere der folgenden Gene abzuschwächen, insbesondere deren Expression zu verringern, oder auszuschalten:

10

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen *thrB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen *ilvA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen *thrC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen *ddh* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)

15

- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen *pck* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)

20

- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen *pgi* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)

- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen *poxB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen *dapA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)

- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen *dapB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)

- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen *lysA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

30

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen *metF*-Gene in coryneformen Bakterien gleichzeitig wenigstens eines der folgenden Gene so zu mutieren, dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird:

35

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen *thrB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen *ilvA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)

- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)
- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)
- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben der Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metF-Gens unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten (Nakayama: "Breeding of Amino Acid Producing Microorganisms", in: Overproduction of Microbial Products, Krumphanzl, Sikyta, Vaneek (eds.), Academic Press, London, UK, 1982).

Die erfindungsgemäß hergestellten Mikroorganismen können kontinuierlich oder diskontinuierlich im batch- Verfahren (Satzkultivierung) oder im fed batch (Zulaufverfahren) oder repeated fed batch Verfahren (repetitives Zulaufverfahren) zur Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, kultiviert werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen gewöhnlich eine oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-

5 Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z. B. Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnußöl und Kokosfett, Fettsäuren wie z. B. Palmitinsäure, Stearinsäure oder Linolsäure, Alkohole wie z. B. Glycerin, Methanol oder Ethanol und organische Säuren wie z. B. Essigsäure oder Milchsäure.

10 Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe

15 Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium,

20 Mangan, Zink, Kupfer und Eisen

Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

30 Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere

35 Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Me-



lassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht läßt sich während der Anzucht durch Zugabe von basische Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder saure Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummittel wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z. B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C und. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere L-Methionin enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Vorteilhaft ist außerdem auch, wenn die Fermentation zumindest am Ende, insbesondere jedoch über mindestens 30% der Fermentationsdauer zuckerlimitiert gefahren wird. Das heißt, dass während dieser Zeit die Konzentration an verwertbarem Zucker im Fermentationsmedium auf  $\geq 0$  bis 3 g/l gehalten, beziehungsweise abgesenkt wird.

Die Fermentationsbrühe wird anschließend weiterverarbeitet. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration,

Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden.

Anschließend kann die Fermentationsbrühe mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann anschließend durch Gefriertrocknung, Sprühtrocknung, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

Es ist aber auch möglich die schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, weiter aufzureinigen. Hierzu wird die produktthaltige Brühe nach dem Abtrennen der Biomasse einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Produkt oder die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann durch Techniken des Standes der Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

Die Erfindung wird nun anhand der folgenden nicht-limitierenden Beispiele näher beschrieben:

#### **Beispiel 1: Konstruktion von pCLiK5MCS**

Zunächst wurden Ampicillinresistenz und Replikationsursprung des Vektors pBR322 mit den Oligonukleotiden p1.3 (SEQ ID NO:55) und p2.3 (SEQ ID NO:56) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

p1.3 (SEQ ID NO:55)

5'-CCCGGGATCCGCTAGCGGCGCGCCGGCCGGCCCGGTGTGAAATACCGCACAG-3'

5 p2.3 (SEQ ID NO:56)

5'-TCTAGACTCGAGCGGCCGCGGCCGGCCTTTAAATTGAAGACGAAAGGGCCTCG-3'

10 Neben den zu pBR322 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid p1.3 (SEQ ID NO:55) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SmaI, BamHI, NheI und AscI und das Oligonukleotid p2.3 (SEQ ID NO:56) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, XhoI, NotI und DraI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,1 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Die stumpfen Enden des DNA-Fragmentes wurden mit dem Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers miteinander ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK1.

Ausgehend vom Plasmid pWLT1 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden neo1 (SEQ ID NO:57) und neo2 (SEQ ID NO:58) eine Kanamycin-Resistenzcassette amplifiziert.

30

neo1 (SEQ ID NO:57):

5'-GAGATCTAGACCCGGGGATCCGCTAGCGGGCTGCTAAAGGAAGCGGA-3'

neo2 (SEQ ID NO:58):

35 5'-GAGAGGCGCGCCGCTAGCGTGGGCGAAGAACTCCAGCA-3'

Neben den zu pWLT1 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid neo1 in 5'-3'

Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, SmaI, BamHI, NheI und das Oligonukleotid neo2 (SEQ ID NO:58) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen AscI und NheI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,3 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK1 wurde ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,1kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) und Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK2.

Der Vektor pCLiK2 wurde mit der Restriktionsendonuklease DraI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ca. 2,3 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers religiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben (1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK3.

- 5 Ausgehend vom Plasmid pWLQ2 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden cg1 ((SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) der Replikationsursprung pHM1519 amplifiziert.

cg1 (SEQ ID NO:59):

10 5'-GAGAGGGCGGCCGCGCAAAGTCCCGCTTCGTGAA-3'

cg2 (SEQ ID NO:60):

5'-GAGAGGGCGGCCGCTCAAGTCGGTCAAGCCACGC-3'

- 15 Neben den zu pWLQ2 komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide cg1 (SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,7 kb wurde mit dem
- 20 GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK3 wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,3kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach An-
- 30 gaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

35

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so

erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5.

Für die Erweiterung von pCLiK5 um eine „multiple cloning site“ (MCS) wurden die beide synthetischen, weitestgehend komplementären Oligonukleotide HS445 ((SEQ ID NO:61) und HS446 (SEQ ID NO:62), die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SwaI, XhoI, AatI, ApaI, Asp718, MluI, NdeI, SpeI, EcoRV, Sall, ClaI, BamHI, XbaI und SmaI enthalten, durch gemeinsames Erhitzen auf 95°C und langsames Abkühlen zu einem doppelsträngigen DNA-Fragment vereinigt.

10 HS445 (SEQ ID NO:61):

5'-TCGAATTTAAATCTCGAGAGGCCTGACGTCGGGCCCCGGTACCACGCGTCATATGACTAG  
TTCGGACCTAGGGATATCGTTCGACATCGATGCTCTTCTGCGTTAATTAACAATTGGGATCC  
TCTAGACCCGGGATTAAAT-3'

15 HS446 (SEQ ID NO:62):

5'-GATCATTTAAATCCCGGGTCTAGAGGATCCCAATTGTTAATTAACGCAGAAGAGCATCGA  
TGTCGACGATATCCCTAGGTCCGAAGTAGTCATATGACGCGTGGTACCGGGCCCGACGTC  
AGGCCTCTCGAGATTAAAT-3'

20 Der Vektor pCLiK5 wurde mit den Restriktionsendonuklease XhoI und BamHI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 5,0 kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem synthetischen doppelsträngigen DNA-Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

35 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klon wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Aca-

demy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS ist als SEQ ID NO: 65 aufgeführt.

5

### **Beispiel 2: Konstruktion von pCLiK5MCS integrativ sacB**

Ausgehend vom Plasmid pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73(1994)) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden BK1732 und BK1733 das *Bacillus subtilis* sacB Gen (kodierend für Levan Sucrase) amplifiziert.

10

BK1732 (SEQ ID NO:63):

5'-GAGAGCGGCCGCCGATCCTTTTAAACCCATCAC-3'

15 BK1733 (SEQ ID NO:64):

5'-AGGAGCGGCCGCCATCGGCATTTTCTTTTGCG-3'

Neben den zu pEK19mobsac komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide BK1732 und BK1733 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,9 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt.

20

Der Vektor pCLiK5MCS (hergestellt gemäß Beispiel 1) wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ungefähr 2,4 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente *E.coli* XL-1Blue (Stratagene,

30

35

La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

5 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS integrativ sacB.

10 Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS integrativ sacB ist als SEQ ID NO: 66 aufgeführt. Weitere Vektoren die zur erfindungsgemäßen Expression oder Überproduktion von metF-Genen geeignet sind, können in analoger Weise hergestellt werden.

15



Patentansprüche

1. Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen  
Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:
- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie  
produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen  
Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird,  
welche für ein Protein mit Methionin-Synthase (metF) –Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den  
Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die schwefelhaltige Feinchemikalie L-Methionin  
umfasst.
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei sich die heterologe metF-  
kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium*  
*glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie vom weniger als 100% aufweist.
4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die metF-kodierende Sequenz aus einem der  
folgenden Organismen abgeleitet ist:

| Organismus                        | Stammsammlung |
|-----------------------------------|---------------|
| <i>Corynebacterium diptheriae</i> | ATCC 14779    |
| <i>Streptomyces lividans</i>      | ATCC 19844    |
| <i>Streptomyces coelicolor</i>    | ATCC 10147    |
| <i>Aquifex aeolicus</i>           | DSM 6858      |
| <i>Burkholderia cepacia</i>       | ATCC 25416    |
| <i>Nitrosomonas europaea</i>      | ATCC 19718    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | ATCC 17933    |
| <i>Xylella fastidiosa</i>         | ATCC 35881    |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i>    | ATCC 13525    |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i>  | ATCC 24969    |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>   | ATCC 10751    |
| <i>Erwinia carotovora</i>         | ATCC 15713    |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | ATCC 700721   |
| <i>Salmonella typhi</i>           | ATCC 12839    |
| <i>Salmonella typhimurium</i>     | ATCC 15277    |
| <i>Escherichia coli</i> K12       | ATCC55151     |

|   |            |
|---|------------|
| <i>Vibrio cholerae</i>                      | ATCC 39315 |
| <i>Haemophilus influenzae</i>               | ATCC 51907 |
| <i>Caulobacter crescentus</i>               | ATCC 19089 |
| <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | ATCC 33384 |
| <i>Neisseria meningitis</i>                 | ATCC 6253  |
| <i>Rhodobacter capsulatus</i>               | ATCC 11166 |
| <i>Campylobacter jejuni</i>                 | ATCC 33560 |
| <i>Lactococcus lactis</i>                   | ATCC 7962  |
| <i>Prochlorococcus marinus</i>              | PCC7118    |
| <i>Bacillus stearothermophilus</i>          | ATCC 12980 |

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht, umfasst.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA ist.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, wobei man
- a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
- b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz überexprimiert wird.

10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist oder derart mutiert ist, dass es durch Stoffwechselmetabolite nicht in seiner Aktivität beeinflusst wird.

11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen *lysC*,
- b) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen *gap*,
- c) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen *pgk*,
- d) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen *pyc*,
- e) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen *tpi*,
- f) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen *metA*,
- g) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen *metB*,
- h) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen *metC*,
- i) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen *glyA*,
- j) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierenden Gen *metY*,
- k) dem für das *metH* Gen, das für die Vitamin B12 abhängige Methionin-Synthase kodiert,
- l) dem für das *serC* Gen, das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodiert,
- m) dem *serB* Gen, das für die Phosphoserin-Phosphatase kodiert,
- n) dem *cysE* Gen, das für die Serine Acetyl-Transferase kodiert, und
- o) dem *hom* Gen, das eine Homoserin-Dehydrogenase kodiert,

überexprimiert oder so mutiert ist, dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden.

13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter
- a) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
  - b) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
  - c) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
  - d) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
  - e) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
  - f) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,
  - g) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
  - h) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,
  - i) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen dapB; oder
  - j) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen
- durch Veränderung der Expressionsrate oder durch Einführung einer gezielten Mutation abgeschwächt ist.
14. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* einsetzt.
15. Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
  - b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
  - c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
  - d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.
16. Verfahren gemäß Anspruch 15, wobei man Mikroorganismen gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14 einsetzt.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für

5 ein Methionin-Synthase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenzen exprimiert wird.

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; BASF Aktiengesellschaft

&lt;120&gt; MetF

&lt;130&gt; M/43126

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 66

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 984

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; corynebacterium diphtheriae

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(981)

&lt;223&gt; RDI01260

&lt;400&gt; 1

|   |     |
|---|-----|
| atg tct gca caa ccg cta cct gct gcg tat cag cgc aca atc acc gat | 48  |
| Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp |     |
| 1 5 10 15   |     |
| gtc att tcc atg cca aca ccg ggc cag gtt ccg ttt tct gta gag ttt | 96  |
| Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe |     |
| 20 25 30  |     |
| atg ccg cca cga gat gag gca gca gaa gag cga ctc tgg aaa gcc gcc | 144 |
| Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala |     |
| 35 40 45  |     |
| gaa gca ttt cac gac tta gga gcc tct ttt gtc tcc gtt act tat ggt | 192 |
| Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly |     |
| 50 55 60  |     |
| gca ggc gga tct agc cgc gag cgc aca atg cgt gtc gcg cac aag ctt | 240 |
| Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu |     |
| 65 70 75 80   |     |
| tct cgt cat ccg ttg acc acg ctc gtt cat ctc acg ctt gtg gaa cac | 288 |
| Ser Arg His Pro Leu Thr Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His |     |
| 85 90 95  |     |
| acc caa gaa gaa tta gaa gaa att ctg tgc act tat gcg tcc cac ggg | 336 |
| Thr Gln Glu Glu Leu Glu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly |     |
| 100 105 110   |     |
| ttg tct aac tta ctt gcc ttg cga ggc gat ccc cct ggc act gac ccg | 384 |
| Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro |     |
| 115 120 125   |     |
| atg gct ccg tgg gtc cct acc gca ggc ggc cta gat tat gcc aaa gat | 432 |
| Met Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp |     |
| 130 135 140   |     |
| ttg atc gac ctc gtg cgc aag act gag cag acc tcg cac ttt cag gta | 480 |
| Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val |     |
| 145 150 155 160   |     |

gga att gct agt ttc cca gaa ggg cac tac cga gcg cct agc att gag 528  
 Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu  
                     165                    170                    175

gcg gat acg caa ttt aca ttg gaa aag ctg cga gct ggc gca gag ttt 576  
 Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe  
                     180                    185                    190

tcg att acc cag atg ttt ttt gat gtc gat cac tat tta cga ctg cga 624  
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg  
                     195                    200                    205

gat cgc ttg gtt aag gcg gat cct gaa cat gga tca aag ccg atc atc 672  
 Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile  
                     210                    215                    220

cca gga ctt atg ccc att acc agc ttg agg tcg gtt cgt agg cag atg 720  
 Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met  
                     225                    230                    235                    240

aa tta gca ggt gcc acc ttg cct aag gct tta gaa aaa cgg ctt ctc 768  
 lu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu  
                     245                    250                    255

gac gca gcg cgc ggc gat gag gaa gct cat cgc ggc gat att cgc aaa 816  
 Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys  
                     260                    265                    270

gta gga atc gaa gtc act act gag atg gca cag cgt ctt att tot gaa 864  
 Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu  
                     275                    280                    285

ggg atc cca gac atc cat ttc atg acc atg aat tat gtt cga gcg acc 912  
 Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr  
                     290                    295                    300

caa gaa gta ctc cat aat ctc ggc atg gcg ccc gcg tgg gga aca cag 960  
 Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln  
                     305                    310                    315                    320

aa ggc cac gac gct att cgc taa 984  
 ln Gly His Asp Ala Ile Arg  
                     325

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 327

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; corynebacterium diphtheriae

&lt;400&gt; 2

Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp  
 1                    5                    10                    15

Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe  
 20                    25                    30

Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala  
 35                    40                    45

Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly  
 50                    55                    60

Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu  
 65 70 75 80  
 Ser Arg His Pro Leu Thr Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His  
 85 90 95  
 Thr Gln Glu Glu Leu Glu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly  
 100 105 110  
 Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro  
 115 120 125  
 Met Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp  
 130 135 140  
 Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val  
 145 150 155 160  
 Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu  
 165 170 175  
 Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe  
 180 185 190  
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg  
 195 200 205  
 Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile  
 210 215 220  
 Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met  
 225 230 235 240  
 Glu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu  
 245 250 255  
 Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys  
 260 265 270  
 Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu  
 275 280 285  
 Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr  
 290 295 300  
 Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln  
 305 310 315 320  
 Gln Gly His Asp Ala Ile Arg  
 325

<210> 3

<211> 924

<212> DNA

<213> Streptomyces lividans

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (921)

<223> RSV00084



&lt;400&gt; 3

|   |     |
|---|-----|
| atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg | 48  |
| Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val |     |
| 1 5 10 15   |     |
| cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg | 96  |
| Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser |     |
| 20 25 30  |     |
| gcg ccg aag acg ccc aag ggc gag aag aac ctc tgg agc gcg ctg cgg | 144 |
| Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Lys Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg |     |
| 35 40 45  |     |
| cgg gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc | 192 |
| Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala |     |
| 50 55 60  |     |
| ggc ggc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc | 240 |
| Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val |     |
| 65 70 75 80   |     |
| cc gac acc acg ctg acc ccg gtg gcc cac ctc acc gcc gtc gac cac  | 288 |
| Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His |     |
| 85 90 95  |     |
| tcc gtc gcc gag ctg cgc aac atc atc ggc cag tac gcc gac gcc ggg | 336 |
| Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly |     |
| 100 105 110   |     |
| atc cgc aac atg ctg gcc gtg cgc ggc gac ccg ccc ggc gac ccg aac | 384 |
| Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn |     |
| 115 120 125   |     |
| gcc gac tgg atc gcg cac ccc gag ggc ctg acc tac gcg gcc gaa ctg | 432 |
| Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu |     |
| 130 135 140   |     |
| gtc agg ctc atc aag gag tcg gga gac ttc tgc gtc ggc gtc gcc gcc | 480 |
| Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala |     |
| 145 150 155 160   |     |
| tc ccc gag atg cac ccg cgc tcc gcc gac tgg gac acg gac gtc acg  | 528 |
| Leu Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr |     |
| 165 170 175   |     |
| aac ttc gtc gac aag tgc cgg gcc ggc gcc gac tac gcc atc acc cag | 576 |
| Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln |     |
| 180 185 190   |     |
| atg ttc ttc cag ccc gac tcc tac ctc cgg ctg cgc gac cgg gtc gcc | 624 |
| Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala |     |
| 195 200 205   |     |
| gcg gcc ggc tgc gcg acc ccg gtc att ccc gag gtc atg ccg gtg acc | 672 |
| Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr |     |
| 210 215 220   |     |
| agt gtg aag atg ctg gag agg ttg ccg aag ctc agc aac gcc tcg ttc | 720 |
| Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe |     |
| 225 230 235 240   |     |
| ccg gcg gag ctg aaa gag cgg atc ctc aca gcc aag gac gat ccg gcg | 768 |
| Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala |     |

| 245   |     |  |  |  |  |  |  |  |  | 250 |  |  |  |  | 255 |  |  |  |  |  |
|---|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|--|
| gct gta cgc tcg atc ggc atc gag ttc gcc acg gag ttc tgc gcg cgg | 816 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| 260 265 270   |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| ctg ctg gcc gag gga gtg cca gga ctg cac ttc atc acg ctc aac aac | 864 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| 275 280 285   |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| tcc acg gcg acg ctg gaa atc tac gag aac ctg ggc ctg cac cac cca | 912 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| 290 295 300   |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| ccg cgg gcc tag   | 924 |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| Pro Arg Ala   |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |
| 305   |     |  |  |  |  |  |  |  |  |     |  |  |  |  |     |  |  |  |  |  |

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 307

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Streptomyces lividans

&lt;400&gt; 4

|   |  |
|---|--|
| Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val |  |
| 1 5 10 15   |  |
| Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser |  |
| 20 25 30  |  |
| Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Lys Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg |  |
| 35 40 45  |  |
| Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala |  |
| 50 55 60  |  |
| Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val |  |
| 65 70 75 80   |  |
| Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His |  |
| 85 90 95  |  |
| Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly |  |
| 100 105 110   |  |
| Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn |  |
| 115 120 125   |  |
| Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu |  |
| 130 135 140   |  |
| Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala |  |
| 145 150 155 160   |  |
| Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr |  |
| 165 170 175   |  |
| Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln |  |
| 180 185 190   |  |
| Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala |  |
| 195 200 205   |  |

Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr  
 210 215 220

Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe  
 225 230 235 240

Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala  
 245 250 255

Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg  
 260 265 270

Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn  
 275 280 285

Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro  
 290 295 300

Pro Arg Ala  
 305

<210> 5  
 <211> 924  
 <212> DNA  
 <213> Streptomyces coelicolor

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(921)  
 <223> RSX01699

<400> 5  
 atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg 48  
 Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val  
 1 5 10 15

cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg 96  
 Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser  
 20 25 30

cgc ccg aag acg ccc aag ggc gag agg aac ctc tgg agc gcg ctg cgg 144  
 Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Arg Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg  
 35 40 45

cgg gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc 192  
 Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala  
 50 55 60

ggc gcc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc 240  
 Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val  
 65 70 75 80

gcc gac acc acg ctg acc ccg gtg gcc cac ctc acc gcc gtc gac cac 288  
 Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His  
 85 90 95

tcc gtc gcc gag ctg cgc aac atc atc ggc cag tac gcc gac gcc ggg 336  
 Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly  
 100 105 110

atc cgc aac atg ctg gcc gtg cgc ggc gac ccg ccc ggc gac ccg aac 384

```

Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn
115                               120                               125

gcc gac tgg atc gcg cac ccc gag ggc ctg acc tac gcg gcc gaa ctg 432
Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu
130                               135                               140

gtc agg ctc atc aag gag tgc ggc gac ttc tgc gtc ggc gtc gcg gcc 480
Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala
145                               150                               155                               160

ttc ccc gag atg cac ccg cgc tcc gcc gac tgg gac acg gac gtc acg 528
Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr
165                               170                               175

aac ttc gtc gac aag tgc cgg gcc ggc gcc gac tac gcc atc acc cag 576
Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln
180                               185                               190

atg ttc ttc cag ccc gac tcc tat ctc cgg ctg cgc gac cgg gtc gcc 624
Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala
195                               200                               205

gcg gcc ggc tgc gcg acc ccg gtc atc ccc gag gtc atg ccg gtg acc 672
Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr
210                               215                               220

agt gtg aag atg ctg gag agg ttg ccg aag ctc agc aac gcc tcg ttc 720
Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe
225                               230                               235                               240

ccg gcg gag ttg aaa gag cgg atc ctc aca gcc aag gac gat ccg gcg 768
Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala
245                               250                               255

gct gta cgc tcg atc ggc atc gag ttc gcc acg gag ttc tgc gcg cgg 816
Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg
260                               265                               270

ctg ctg gcc gag gga gtg cca gga ctg cac ttc atc acg ctc aac aac 864
Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn
275                               280                               285

tcc acg gcg acg ctg gaa atc tac gag aac ctg ggc ctg cac cac cca 912
Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro
290                               295                               300

ccg cgg gcc tag 924
Pro Arg Ala
305

```

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 307

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Streptomyces coelicolor

&lt;400&gt; 6

```

Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val
1           5           10           15

```

```

Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser

```

M/43126

MetF

| 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ala | Pro | Lys | Thr | Pro | Lys | Gly | Glu | Arg | Asn | Leu | Trp | Ser | Ala | Leu | Arg |  |
| 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |  |
| Arg | Val | Glu | Ala | Val | Ala | Pro | Asp | Phe | Val | Ser | Val | Thr | Tyr | Gly | Ala |  |
| 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |  |
| Gly | Gly | Ser | Thr | Arg | Ala | Gly | Thr | Val | Arg | Glu | Thr | Gln | Gln | Ile | Val |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Ala | Asp | Thr | Thr | Leu | Thr | Pro | Val | Ala | His | Leu | Thr | Ala | Val | Asp | His |  |
| 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Val | Ala | Glu | Leu | Arg | Asn | Ile | Ile | Gly | Gln | Tyr | Ala | Asp | Ala | Gly |  |
| 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     |     |  |
| Ile | Arg | Asn | Met | Leu | Ala | Val | Arg | Gly | Asp | Pro | Pro | Gly | Asp | Pro | Asn |  |
| 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |     |  |
| Ala | Asp | Trp | Ile | Ala | His | Pro | Glu | Gly | Leu | Thr | Tyr | Ala | Ala | Glu | Leu |  |
| 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |  |
| Val | Arg | Leu | Ile | Lys | Glu | Ser | Gly | Asp | Phe | Cys | Val | Gly | Val | Ala | Ala |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| Phe | Pro | Glu | Met | His | Pro | Arg | Ser | Ala | Asp | Trp | Asp | Thr | Asp | Val | Thr |  |
| 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |     |     |  |
| Asn | Phe | Val | Asp | Lys | Cys | Arg | Ala | Gly | Ala | Asp | Tyr | Ala | Ile | Thr | Gln |  |
| 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |     |     |  |
| Met | Phe | Phe | Gln | Pro | Asp | Ser | Tyr | Leu | Arg | Leu | Arg | Asp | Arg | Val | Ala |  |
| 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |  |
| Ala | Ala | Gly | Cys | Ala | Thr | Pro | Val | Ile | Pro | Glu | Val | Met | Pro | Val | Thr |  |
| 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Val | Lys | Met | Leu | Glu | Arg | Leu | Pro | Lys | Leu | Ser | Asn | Ala | Ser | Phe |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Pro | Ala | Glu | Leu | Lys | Glu | Arg | Ile | Leu | Thr | Ala | Lys | Asp | Asp | Pro | Ala |  |
| 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |     |     |     |  |
| Ala | Val | Arg | Ser | Ile | Gly | Ile | Glu | Phe | Ala | Thr | Glu | Phe | Cys | Ala | Arg |  |
| 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |     |     |  |
| Leu | Leu | Ala | Glu | Gly | Val | Pro | Gly | Leu | His | Phe | Ile | Thr | Leu | Asn | Asn |  |
| 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |     |  |
| Ser | Thr | Ala | Thr | Leu | Glu | Ile | Tyr | Glu | Asn | Leu | Gly | Leu | His | His | Pro |  |
| 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |     |  |
| Pro | Arg | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 305 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 891

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Aquifex aeolicus

&lt;220&gt;

M/43126

MetF

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (888)

&lt;223&gt; RAA00346

&lt;400&gt; 7

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| atg | aaa | ata | gga | gat | ata | ctg | agg | aaa | gga | gtt | ttc | agt | att | tct | ttt | 48  |
| Met | Lys | Ile | Gly | Asp | Ile | Leu | Arg | Lys | Gly | Val | Phe | Ser | Ile | Ser | Phe |     |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gag | ttc | ttt | cca | ccg | aag | act | gaa | gag | gga | gaa | aga | cag | ctc | ttt | gaa | 96  |
| Glu | Phe | Phe | Pro | Pro | Lys | Thr | Glu | Glu | Gly | Glu | Arg | Gln | Leu | Phe | Glu |     |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| act | ata | agg | aaa | ctt | gag | aaa | tta | aat | cct | act | ttt | gta | tcc | gtt | act | 144 |
| Thr | Ile | Arg | Lys | Leu | Glu | Lys | Leu | Asn | Pro | Thr | Phe | Val | Ser | Val | Thr |     |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| tac | ggg | gca | ggg | ggg | tcg | act | aga | gat | aga | act | agg | aat | ata | gta | cag | 192 |
| Tyr | Gly | Ala | Gly | Gly | Ser | Thr | Arg | Asp | Arg | Thr | Arg | Asn | Ile | Val | Gln |     |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| ata | ata | cac | gag | gaa | act | aac | ctc | acc | gtt | atg | gca | cac | ctc | acc | tgt | 240 |
| Lys | Ile | His | Glu | Glu | Thr | Asn | Leu | Thr | Val | Met | Ala | His | Leu | Thr | Cys |     |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| ata | gca | cac | acg | aga | gag | gag | ctt | att | gat | atc | ctt | caa | gat | tac | aaa | 288 |
| Ile | Ala | His | Thr | Arg | Glu | Glu | Leu | Ile | Asp | Ile | Leu | Gln | Asp | Tyr | Lys |     |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| aac | ata | ggg | ata | gag | aac | att | ctc | gct | ttg | agg | ggg | gac | gtt | ccg | agg | 336 |
| Asn | Ile | Gly | Ile | Glu | Asn | Ile | Leu | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Val | Pro | Arg |     |
|     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gac | aaa | ccg | gac | tgg | aga | ccg | ccg | aag | ggg | gag | tgc | aag | tat | gca | aaa | 384 |
| Asp | Lys | Pro | Asp | Trp | Arg | Pro | Pro | Lys | Gly | Ala | Cys | Lys | Tyr | Ala | Lys |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gag | ctc | gta | gaa | ctg | atc | agg | aag | gag | ttc | gga | gac | tgg | ttt | tct | atc | 432 |
| Glu | Leu | Val | Glu | Leu | Ile | Arg | Lys | Glu | Phe | Gly | Asp | Trp | Phe | Ser | Ile |     |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gaa | gtg | gct | tct | tat | cct | gaa | gga | cat | ccg | gaa | tca | ccg | aac | ctc | gag | 480 |
| Gly | Val | Ala | Ser | Tyr | Pro | Glu | Gly | His | Pro | Glu | Ser | Pro | Asn | Leu | Glu |     |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| tgg | gaa | gtg | aag | tac | ttt | aag | gaa | aag | gta | gag | gca | ggg | gca | gac | ttc | 528 |
| Trp | Glu | Val | Lys | Tyr | Phe | Lys | Glu | Lys | Val | Glu | Ala | Gly | Ala | Asp | Phe |     |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| tcg | att | act | cag | atg | ttt | ttc | gtg | aac | gat | tac | tac | tac | agg | ttt | gtg | 576 |
| Ser | Ile | Thr | Gln | Met | Phe | Phe | Val | Asn | Asp | Tyr | Tyr | Tyr | Arg | Phe | Val |     |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gaa | atg | tgc | aaa | aat | gca | ggg | ata | gat | ata | tct | ata | att | ccg | gga | att | 624 |
| Glu | Met | Cys | Lys | Asn | Ala | Gly | Ile | Asp | Ile | Ser | Ile | Ile | Pro | Gly | Ile |     |
|     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| atg | cct | att | act | aac | ttc | aaa | cag | ata | aga | aag | ttt | gct | tct | ctt | tgc | 672 |
| Met | Pro | Ile | Thr | Asn | Phe | Lys | Gln | Ile | Arg | Lys | Phe | Ala | Ser | Leu | Cys |     |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gga | gag | acg | att | cca | cag | agt | ctt | ata | gaa | aag | ctt | gaa | aaa | gtg | gag | 720 |
| Gly | Ala | Thr | Ile | Pro | Gln | Ser | Leu | Ile | Glu | Lys | Leu | Glu | Lys | Val | Glu |     |

| 225   | 230 | 235 | 240 |     |
|---|-----|-----|-----|-----|
| gat aaa ccg gaa gaa gta aaa aag ata ggg att gag ttt gcc ata aat |     |     |     | 768 |
| Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn | 245 | 250 | 255 |     |
| cag tgt ttg gat ctc ata gaa cac gga gtt ccg ggg ctt cac ttc tac |     |     |     | 816 |
| Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr | 260 | 265 | 270 |     |
| act ctg aac aag tcc gac gca act ttg aag ata tac gag gct ata aag |     |     |     | 864 |
| Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys | 275 | 280 | 285 |     |
| gat aaa ata ccg gcc cgt tca act taa                             |     |     |     | 891 |
| Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr                                 | 290 | 295 |     |     |

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 296

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Aquifex aeolicus

&lt;400&gt; 8

|   |     |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Met Lys Ile Gly Asp Ile Leu Arg Lys Gly Val Phe Ser Ile Ser Phe | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Glu Glu Gly Glu Arg Gln Leu Phe Glu | 20  | 25  | 30  |     |
| Thr Ile Arg Lys Leu Glu Lys Leu Asn Pro Thr Phe Val Ser Val Thr | 35  | 40  | 45  |     |
| Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Arg Asn Ile Val Gln | 50  | 55  | 60  |     |
| Lys Ile His Glu Glu Thr Asn Leu Thr Val Met Ala His Leu Thr Cys | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile Ala His Thr Arg Glu Glu Leu Ile Asp Ile Leu Gln Asp Tyr Lys | 85  | 90  | 95  |     |
| Asn Ile Gly Ile Glu Asn Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Val Pro Arg | 100 | 105 | 110 |     |
| Asp Lys Pro Asp Trp Arg Pro Pro Lys Gly Ala Cys Lys Tyr Ala Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Glu Leu Val Glu Leu Ile Arg Lys Glu Phe Gly Asp Trp Phe Ser Ile | 130 | 135 | 140 |     |
| Gly Val Ala Ser Tyr Pro Glu Gly His Pro Glu Ser Pro Asn Leu Glu | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Trp Glu Val Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Glu Ala Gly Ala Asp Phe | 165 | 170 | 175 |     |
| Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Val Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Phe Val | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu Met Cys Lys Asn Ala Gly Ile Asp Ile Ser Ile Ile Pro Gly Ile | 195 | 200 | 205 |     |

Met Pro Ile Thr Asn Phe Lys Gln Ile Arg Lys Phe Ala Ser Leu Cys  
 210 215 220

Gly Ala Thr Ile Pro Gln Ser Leu Ile Glu Lys Leu Glu Lys Val Glu  
 225 230 235 240

Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn  
 245 250 255

Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr  
 260 265 270

Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys  
 275 280 285

Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr  
 290 295

<210> 9  
 <211> 831  
 <212> DNA  
 <213> Burkholderia cepacia

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(828)  
 <223> RBU14992

<400> 9  
 atg aac ccg atc gaa ctt tca ttc gaa ttc ttc ccg ccg aaa acg cag 48

Met Asn Pro Ile Glu Leu Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Gln  
 1 5 10 15

gaa ggc gtg gac aag ctg cgc gcc acg cgc gcc cag ctc gcc acg ctc 96  
 Glu Gly Val Asp Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ala Gln Leu Ala Thr Leu  
 20 25 30

aag ccc aag ttc gtg tcc gtc acg ttc ggc gcc ggc ggc tcg acg caa 144  
 Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Gln  
 35 40 45

cag ggc acg ctc gac acc gtc gtc gat atg gcg aag gaa ggg ctc gaa 192  
 Gln Gly Thr Leu Asp Thr Val Val Asp Met Ala Lys Glu Gly Leu Glu  
 50 55 60

gcg gcg ccg cac gtg tcg tgc atc ggc tcg tcg aaa gag agc ctg cgc 240  
 Ala Ala Pro His Val Ser Cys Ile Gly Ser Ser Lys Glu Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

gcc att ctc aac gag tac cgc gca cat ggc atc cgc cat atc gtc gcg 288

Ala Ile Leu Asn Glu Tyr Arg Ala His Gly Ile Arg His Ile Val Ala  
 85 90 95

ctg cgc ggc gat ctg ccg tcc ggc atg ggc gaa gtc ggc gag ctg cgc 336  
 Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Glu Val Gly Glu Leu Arg  
 100 105 110

tat gcg tcg gaa ctg gtg agc ttt atc cgc gcc gaa ttc ggc gac tgg 384  
 Tyr Ala Ser Glu Leu Val Ser Phe Ile Arg Ala Glu Phe Gly Asp Trp



| 115   | 120 | 125 |     |
|---|-----|-----|-----|
| ttc tgc atc gag gtg gcc ggc tat ccg gaa tac cac ccg cag tcg cgc |     |     | 432 |
| Phe Cys Ile Glu Val Ala Gly Tyr Pro Glu Tyr His Pro Gln Ser Arg |     |     |     |
| 130   | 135 | 140 |     |
| tcg ccg cgt cag gat ctg gaa aac ttc gcc cgc aag gtg aag gcc ggc |     |     | 480 |
| Ser Pro Arg Gln Asp Leu Glu Asn Phe Ala Arg Lys Val Lys Ala Gly |     |     |     |
| 145   | 150 | 155 | 160 |
| gcc aat tcg gcg atc aca cag tac ttc ttc aat gca gac gcg tat ttc |     |     | 528 |
| Ala Asn Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe |     |     |     |
|   | 165 | 170 | 175 |
| cgt ttc gtc gac gac gcg aga aag ctg gcc gtg gac gtg ccg atc gtg |     |     | 576 |
| Arg Phe Val Asp Asp Ala Arg Lys Leu Gly Val Asp Val Pro Ile Val |     |     |     |
|   | 180 | 185 | 190 |
| ccg ggc atc atg ccg atc acg aac ttc tcg cag ctg atg cgt ttc tcg |     |     | 624 |
| Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Phe Ser Gln Leu Met Arg Phe Ser |     |     |     |
|   | 195 | 200 | 205 |
| agc atg tgc ggc gct gaa gtg cca cgc tgg atc gcg cgc cgg ctg gaa |     |     | 672 |
| Glu Met Cys Gly Ala Glu Val Pro Arg Trp Ile Ala Arg Arg Leu Glu |     |     |     |
|   | 210 | 215 | 220 |
| agc ttc ggc gac gat cgc gag tca att cgc gcg ttc ggg ctg gat gtg |     |     | 720 |
| Ser Phe Gly Asp Asp Arg Glu Ser Ile Arg Ala Phe Gly Leu Asp Val |     |     |     |
| 225   | 230 | 235 | 240 |
| gtg acg gac ctg tgc agg cgt ctg atc gat gcg aag gtg ccg ggc ctg |     |     | 768 |
| Val Thr Asp Leu Cys Arg Arg Leu Ile Asp Ala Lys Val Pro Gly Leu |     |     |     |
|   | 245 | 250 | 255 |
| cac ttc tac acg cta aac ggc gca gcg gcg acc aag gcg atc tgc gaa |     |     | 816 |
| His Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ala Ala Ala Thr Lys Ala Ile Cys Glu |     |     |     |
|   | 260 | 265 | 270 |
| cgg ttg aac gtt taa   |     |     | 831 |
| Arg Leu Asn Val   |     |     |     |
| 275   |     |     |     |

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 276

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Burkholderia cepacia

&lt;400&gt; 10

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Pro | Ile | Glu | Leu | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | Pro | Pro | Lys | Thr | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Gly | Val | Asp | Lys | Leu | Arg | Ala | Thr | Arg | Ala | Gln | Leu | Ala | Thr | Leu |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Pro | Lys | Phe | Val | Ser | Val | Thr | Phe | Gly | Ala | Gly | Gly | Ser | Thr | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Gly | Thr | Leu | Asp | Thr | Val | Val | Asp | Met | Ala | Lys | Glu | Gly | Leu | Glu |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |

Ala Ala Pro His Val Ser Cys Ile Gly Ser Ser Lys Glu Ser Leu Arg

| 65  | 70  | 75  | 80  |
|---|-----|-----|-----|
| Ala Ile Leu Asn Glu Tyr Arg Ala His Gly Ile Arg His Ile Val Ala | 85  | 90  | 95  |
| Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Glu Val Gly Glu Leu Arg | 100 | 105 | 110 |
| Tyr Ala Ser Glu Leu Val Ser Phe Ile Arg Ala Glu Phe Gly Asp Trp | 115 | 120 | 125 |
| Phe Cys Ile Glu Val Ala Gly Tyr Pro Glu Tyr His Pro Gln Ser Arg | 130 | 135 | 140 |
| Ser Pro Arg Gln Asp Leu Glu Asn Phe Ala Arg Lys Val Lys Ala Gly | 145 | 150 | 155 |
| Ala Asn Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe | 165 | 170 | 175 |
| Arg Phe Val Asp Asp Ala Arg Lys Leu Gly Val Asp Val Pro Ile Val | 180 | 185 | 190 |
| Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Phe Ser Gln Leu Met Arg Phe Ser | 195 | 200 | 205 |
| Glu Met Cys Gly Ala Glu Val Pro Arg Trp Ile Ala Arg Arg Leu Glu | 210 | 215 | 220 |
| Ser Phe Gly Asp Asp Arg Glu Ser Ile Arg Ala Phe Gly Leu Asp Val | 225 | 230 | 235 |
| Val Thr Asp Leu Cys Arg Arg Leu Ile Asp Ala Lys Val Pro Gly Leu | 245 | 250 | 255 |
| His Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ala Ala Ala Thr Lys Ala Ile Cys Glu | 260 | 265 | 270 |
| Arg Leu Asn Val   | 275 |     |     |

<210> 11  
 <211> 846  
 <212> DNA  
 <213> Nitrosomonas europaea

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(843)  
 <223> RNE02657

<400> 11

|   |     |
|---|-----|
| atg caa tcc cag aaa aaa ttt acc ccc aca ttc agt ttt gaa ttt ttc | 48  |
| Met Gln Ser Gln Lys Lys Phe Thr Pro Thr Phe Ser Phe Glu Phe Phe |     |
| 1 5 10 15   |     |
| ccg ccg cag aca ccg gaa ggc atg gaa aag ctg cgg gca acg cgc ata | 96  |
| Pro Pro Gln Thr Pro Glu Gly Met Glu Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ile |     |
| 20 25 30  |     |
| cag ctt gct cag ttc aat ccg aag ttt ttt tcg gtg acg ttt ggt gcc | 144 |

| Gln | Leu | Ala | Gln | Phe | Asn | Pro | Lys | Phe | Phe | Ser | Val | Thr | Phe | Gly | Ala |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
| ggc | gga | tcc | act | cgt | gaa | cgc | acg | ctc | gaa | acc | gtg | ctg | gaa | att | cag | 192 |
| Gly | Gly | Ser | Thr | Arg | Glu | Arg | Thr | Leu | Glu | Thr | Val | Leu | Glu | Ile | Gln |     |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     | 60  |     |     |     |     |     |     |     |
| gca | gaa | ggc | tat | ccg | gta | gcg | ccc | cat | ctt | tcc | tgt | atc | ggc | tcc | acg | 240 |
| Ala | Glu | Gly | Tyr | Pro | Val | Ala | Pro | His | Leu | Ser | Cys | Ile | Gly | Ser | Thr |     |
| 65  |     |     | 70  |     |     | 75  |     |     | 80  |     |     |     |     |     |     |     |
| cgt | gac | aat | atc | cgt | tcg | atc | ctt | gag | aaa | tat | cac | agt | cac | ggc | atc | 288 |
| Arg | Asp | Asn | Ile | Arg | Ser | Ile | Leu | Glu | Lys | Tyr | His | Ser | His | Gly | Ile |     |
|     |     |     | 85  |     |     | 90  |     |     | 95  |     |     |     |     |     |     |     |
| agc | cgc | att | gtg | gcg | cta | cgt | ggc | gat | tta | ccc | tcc | ggc | atg | gcg | cag | 336 |
| Ser | Arg | Ile | Val | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Leu | Pro | Ser | Gly | Met | Ala | Gln |     |
| 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     | 110 |     |     |     |     |     |     |     |
| gcg | gga | gaa | ttc | cgc | tac | gcc | aac | gag | ctg | gta | gca | ttt | atc | cgc | aag | 384 |
| Ala | Gly | Glu | Phe | Arg | Tyr | Ala | Asn | Glu | Leu | Val | Ala | Phe | Ile | Arg | Lys |     |
| 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     | 125 |     |     |     |     |     |     |     |
| gag | ttc | ggc | gat | acc | ttc | tgg | atc | gaa | gtg | gcg | gct | tat | ccg | gaa | tat | 432 |
| Glu | Phe | Gly | Asp | Thr | Phe | Trp | Ile | Glu | Val | Ala | Ala | Tyr | Pro | Glu | Tyr |     |
| 130 |     |     | 135 |     |     | 140 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| cat | cca | caa | gcc | cgc | tcc | gct | ctg | gag | gat | ttc | acc | aat | ttc | aga | cga | 480 |
| His | Pro | Gln | Ala | Arg | Ser | Ala | Leu | Glu | Asp | Phe | Thr | Asn | Phe | Arg | Arg |     |
| 145 |     |     | 150 |     |     | 155 |     |     | 160 |     |     |     |     |     |     |     |
| aaa | gtc | gaa | gca | ggc | tcc | aat | gca | gcg | att | acc | cag | ttt | ttc | tat | aac | 528 |
| Lys | Val | Glu | Ala | Gly | Ser | Asn | Ala | Ala | Ile | Thr | Gln | Phe | Phe | Tyr | Asn |     |
| 165 |     |     | 170 |     |     | 175 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gtg | gat | gcc | tat | ctg | cat | ttc | gta | gag | atg | tgt | gaa | gct | gcg | gat | ctg | 576 |
| Val | Asp | Ala | Tyr | Leu | His | Phe | Val | Glu | Met | Cys | Glu | Ala | Ala | Asp | Leu |     |
| 180 |     |     | 185 |     |     | 190 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| aat | atc | ccg | atc | gtt | ccc | ggc | atc | atg | ccg | atc | agc | aaa | ttt | tct | caa | 624 |
| Asn | Ile | Pro | Ile | Val | Pro | Gly | Ile | Met | Pro | Ile | Ser | Lys | Phe | Ser | Gln |     |
| 195 |     |     | 200 |     |     | 205 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| ctg | gca | aga | ttt | tcg | gat | ggc | tgt | gga | gca | gaa | att | cca | cgc | tgg | att | 672 |
| Leu | Ala | Arg | Phe | Ser | Asp | Gly | Cys | Gly | Ala | Glu | Ile | Pro | Arg | Trp | Ile |     |
| 210 |     |     | 215 |     |     | 220 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| cgc | aga | aaa | ctg | gaa | agc | ttc | ggc | gat | gat | att | ccg | tct | atc | cag | gca | 720 |
| Arg | Arg | Lys | Leu | Glu | Ser | Phe | Gly | Asp | Asp | Ile | Pro | Ser | Ile | Gln | Ala |     |
| 225 |     |     | 230 |     |     | 235 |     |     | 240 |     |     |     |     |     |     |     |
| ttc | ggg | ctg | gat | gtc | gtc | aca | gcg | tta | tgt | gct | cgt | ctg | ctg | gaa | gcc | 768 |
| Phe | Gly | Leu | Asp | Val | Val | Thr | Ala | Leu | Cys | Ala | Arg | Leu | Leu | Glu | Ala |     |
| 245 |     |     | 250 |     |     | 255 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| ggc | gca | ccc | ggc | ctg | cat | ttc | tac | aca | ctc | aac | tcc | gcc | gta | cta | ccc | 816 |
| Gly | Ala | Pro | Gly | Leu | His | Phe | Tyr | Thr | Leu | Asn | Ser | Ala | Val | Leu | Pro |     |
| 260 |     |     | 265 |     |     | 270 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| aca | aaa | atc | tgg | caa | cgc | ctg | ggg | tta | tag |     |     |     |     |     |     | 846 |
| Thr | Lys | Ile | Trp | Gln | Arg | Leu | Gly | Leu |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 275 |     |     | 280 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 12  
 <211> 281  
 <212> PRT  
 <213> Nitrosomonas europaea

<400> 12

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gln | Ser | Gln | Lys | Lys | Phe | Thr | Pro | Thr | Phe | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Pro | Pro | Gln | Thr | Pro | Glu | Gly | Met | Glu | Lys | Leu | Arg | Ala | Thr | Arg | Ile | 20  | 25  | 30  |     |
| Gln | Leu | Ala | Gln | Phe | Asn | Pro | Lys | Phe | Phe | Ser | Val | Thr | Phe | Gly | Ala | 35  | 40  | 45  |     |
| Gly | Gly | Ser | Thr | Arg | Glu | Arg | Thr | Leu | Glu | Thr | Val | Leu | Glu | Ile | Gln | 50  | 55  | 60  |     |
| Ala | Glu | Gly | Tyr | Pro | Val | Ala | Pro | His | Leu | Ser | Cys | Ile | Gly | Ser | Thr | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Arg | Asp | Asn | Ile | Arg | Ser | Ile | Leu | Glu | Lys | Tyr | His | Ser | His | Gly | Ile | 85  | 90  | 95  |     |
| Ser | Arg | Ile | Val | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Leu | Pro | Ser | Gly | Met | Ala | Gln | 100 | 105 | 110 |     |
| Ala | Gly | Glu | Phe | Arg | Tyr | Ala | Asn | Glu | Leu | Val | Ala | Phe | Ile | Arg | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Glu | Phe | Gly | Asp | Thr | Phe | Trp | Ile | Glu | Val | Ala | Ala | Tyr | Pro | Glu | Tyr | 130 | 135 | 140 |     |
| His | Pro | Gln | Ala | Arg | Ser | Ala | Leu | Glu | Asp | Phe | Thr | Asn | Phe | Arg | Arg | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Val | Glu | Ala | Gly | Ser | Asn | Ala | Ala | Ile | Thr | Gln | Phe | Phe | Tyr | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Asp | Ala | Tyr | Leu | His | Phe | Val | Glu | Met | Cys | Glu | Ala | Ala | Asp | Leu | 180 | 185 | 190 |     |
| Asn | Ile | Pro | Ile | Val | Pro | Gly | Ile | Met | Pro | Ile | Ser | Lys | Phe | Ser | Gln | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Ala | Arg | Phe | Ser | Asp | Gly | Cys | Gly | Ala | Glu | Ile | Pro | Arg | Trp | Ile | 210 | 215 | 220 |     |
| Arg | Arg | Lys | Leu | Glu | Ser | Phe | Gly | Asp | Asp | Ile | Pro | Ser | Ile | Gln | Ala | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Phe | Gly | Leu | Asp | Val | Val | Thr | Ala | Leu | Cys | Ala | Arg | Leu | Leu | Glu | Ala | 245 | 250 | 255 |     |
| Gly | Ala | Pro | Gly | Leu | His | Phe | Tyr | Thr | Leu | Asn | Ser | Ala | Val | Leu | Pro | 260 | 265 | 270 |     |
| Thr | Lys | Ile | Trp | Gln | Arg | Leu | Gly | Leu | 275 | 280 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 13  
 <211> 873  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(870)  
 <223> RPA03308

<400> 13  
 gtg gtc gcg tcc aag gaa ccg atc atg agt cag agc gaa cgc cgt ttc 48  
 Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe  
 1 5 10 15  
 agc ttc gag ttc ttc ccg gcg aag acc gag gcc ggc cat gaa aag ctg 96  
 Ser Phe Glu Phe Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu  
 20 25 30  
 ttg gcc acc gcc cgc aac ctg gcg ggc tac aag ccc gac ttc ttc tcc 144  
 Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser  
 35 40 45  
 tgc acc tac ggc gcc ggc gga tcc acc cgc gac cgc acg ttg agt acc 192  
 Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr  
 50 55 60  
 gtg ctg caa ctg gac ggc gag gtg aag gtg ccg acc gcg ccg cac ctg 240  
 Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu  
 65 70 75 80  
 tcc tgt gtc ggc gac tcg aaa gcc gag ttg cgc gaa ctg ctc ggc cgc 288  
 Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg  
 85 90 95  
 tac cgc gag gcc ggc atc cgc cgc atc gtc gcc ctg cgc ggc gac ctg 336  
 Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu  
 100 105 110  
 ccg tcg ggc atg ggc atg gcc agc ggc gaa ctg cgc tac gcc aac gaa 384  
 Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu  
 115 120 125  
 ctg gtg gac ttc atc cgc acc gag acc ggc gac cac ttc cac atc gag 432  
 Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu  
 130 135 140  
 gtc gcc gcc tat ccg gag gtc cac ccc cag gcg cgc agc ttc gag gat 480  
 Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp  
 145 150 155 160  
 gac ctg gcg aac ttc gtg cgc aag gtg aag gcc ggc gcc agc agc gcc 528  
 Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala  
 165 170 175  
 atc acc cag tac ttc ttc aac gcc gat gcc tat ttc tac ttc gtc gag 576  
 Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe Tyr Phe Val Glu  
 180 185 190  
 cgg gtc gcc aag ctc ggc gtg gac atc ccg gtg gtc ccc ggc atc atg 624  
 Arg Val Ala Lys Leu Gly Val Asp Ile Pro Val Val Pro Gly Ile Met  
 195 200 205

ccg atc acc aac tac tcc aag ctg gcg cgc ttc tcc gac gcc tgc ggc 672  
 Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly  
 210 215 220

gcc gaa ctg ccg cgc tgg atc cgc aag caa ctg gaa gcc tac ggc gac 720  
 Ala Glu Leu Pro Arg Trp Ile Arg Lys Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp  
 225 230 235 240

gac agc cgc agc atc cag gcc ttc ggc gag cag gtc atc agc gag atg 768  
 Asp Ser Arg Ser Ile Gln Ala Phe Gly Glu Gln Val Ile Ser Glu Met  
 245 250 255

tgc gaa cgc ctg ctg gag ggc ggc gca ccg gga ctg cat ttc tat act 816  
 Cys Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr  
 260 265 270

ttg aac cag gcc gat ccg agc ctg gcg atc tgg aag aat ctc cag ctg 864  
 Leu Asn Gln Ala Asp Pro Ser Leu Ala Ile Trp Lys Asn Leu Gln Leu  
 275 280 285

ca cgc tga 873  
 ro Arg  
 290

<210> 14  
 <211> 290  
 <212> PRT  
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 14  
 Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe  
 1 5 10 15

Ser Phe Glu Phe Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu  
 20 25 30

Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser  
 35 40 45

ys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr  
 50 55 60

Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu  
 65 70 75 80

Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg  
 85 90 95

Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu  
 100 105 110

Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu  
 115 120 125

Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu  
 130 135 140

Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp  
 145 150 155 160

Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala



cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac 336  
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
                   100                                  105                                  110

gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt acc gag cat ggc gat cac ttc 384  
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe  
                   115                                  120                                  125

cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac 432  
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
                   130                                  135                                  140

aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc 480  
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
                   145                                  150                                  155                                  160

gat gcg gca atc act caa tac ttt tat aac cca gac gcc tat ttc cac 528  
 Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
                                   165                                  170                                  175

ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc 576  
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
                                   180                                  185                                  190

gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa 624  
 Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
                   195                                  200                                  205

caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct 672  
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
                   210                                  215                                  220

tac ggc gac gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gac gtc gtg 720  
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
                   225                                  230                                  235                                  240

acc gca tta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac 768  
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
                                   245                                  250                                  255

ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgc 816  
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
                                   260                                  265                                  270

tta ggc tat tga 828  
 Leu Gly Tyr  
                   275

<210> 16

<211> 275

<212> PRT

<213> Xylella almond

<400> 16

Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
           1                                  5                                  10                                  15

Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
                   20                                  25                                  30

Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
           35                                  40                                  45



Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Ala

50

55

60

Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
65 70 75 80

Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
85 90 95

Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
100 105 110

Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe  
115 120 125

His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
130 135 140

Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
145 150 155 160

Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
165 170 175

Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
180 185 190

Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
195 200 205

Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
210 215 220

Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
225 230 235 240

Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
245 250 255

Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
260 265 270

Leu Gly Tyr  
275

<210> 17

<211> 828

<212> DNA

<213> Xylella oleander

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (825)

<223> RXFY01676

<400> 17

atg att cca atc agc ttc gag ttt tat cca ccc aaa aac gac gat caa 48  
Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
1 5 10 15

|   |     |
|---|-----|
| cgc gca cag ttg gac agg aca gca aac cgg cta cgc gca ttc gca cca | 96  |
| Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro |     |
| 20 25 30  |     |
| gaa tac gtc tcc tgc acc ttc ggc gcc ggc ggc tcc aca ctc agt tac | 144 |
| Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr |     |
| 35 40 45  |     |
| acc tca gaa aca gtg cgc cat ctc agt caa cac cac ggc ttt gac acc | 192 |
| Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr |     |
| 50 55 60  |     |
| gca cgc cat ctg tcc tgt gtg ggc ggc agt cgc caa gaa atc cgc gaa | 240 |
| Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu |     |
| 65 70 75 80   |     |
| ctt ctc aaa ctg tac cgc gcg att ggc tgc caa cgc atc gtg gcg cta | 288 |
| Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu |     |
| 85 90 95  |     |
| cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac | 336 |
| Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr |     |
| 100 105 110   |     |
| gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt gcc gag cat ggc gat cac ttc | 384 |
| Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe |     |
| 115 120 125   |     |
| cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac | 432 |
| His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn |     |
| 130 135 140   |     |
| aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc | 480 |
| Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala |     |
| 145 150 155 160   |     |
| gat gcg gca atc act caa tac ttt tac aac cca gac gcc tat ttc cac | 528 |
| Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His |     |
| 165 170 175   |     |
| ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc | 576 |
| Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala |     |
| 180 185 190   |     |
| gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa | 624 |
| Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu |     |
| 195 200 205   |     |
| caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct | 672 |
| Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala |     |
| 210 215 220   |     |
| tac ggc gat gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gac gtc gtg | 720 |
| Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val |     |
| 225 230 235 240   |     |
| acc gca cta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac | 768 |
| Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His |     |
| 245 250 255   |     |

ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgc 816  
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
                   260                  265                  270

tta ggc tat tga 828  
 Leu Gly Tyr  
                   275

<210> 18

<211> 275

<212> PRT

<213> Xylella oleander

<400> 18

Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
   1                  5                  10                  15

Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
                   20                  25                  30

Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
                   35                  40                  45

Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr  
                   50                  55                  60

Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
   65                  70                  75                  80

Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
                   85                  90                  95

Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
                   100                  105                  110

Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe  
                   115                  120                  125

His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
                   130                  135                  140

Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
   145                  150                  155                  160

Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
                   165                  170                  175

Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
                   180                  185                  190

Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
                   195                  200                  205

Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
                   210                  215                  220

Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
   225                  230                  235                  240

Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
                   245                  250                  255

Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
 260 265 270

Leu Gly Tyr  
 275

<210> 19

<211> 846

<212> DNA

<213> *Pseudomonas fluorescens*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (843)

<223> RPU04845

<400> 19

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| atg | tcc | caa | gac | cgt | cgc | tac | agc | ttc | gag | ttc | ttc | ccg | acc | aag | acc | 48 |
| Met | Ser | Gln | Asp | Arg | Arg | Tyr | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | Pro | Thr | Lys | Thr |    |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |    |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| gat | gct | ggg | cat | gaa | aaa | ctg | ctc | gcc | act | gcc | cgt | cag | ctg | gcc | acc | 96 |
| Asp | Ala | Gly | His | Glu | Lys | Leu | Leu | Ala | Thr | Ala | Arg | Gln | Leu | Ala | Thr |    |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |    |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| tat | aag | cct | gac | ttc | ttt | tcc | tgc | acc | tac | ggc | gct | ggc | ggg | tcg | acc | 144 |
| Tyr | Lys | Pro | Asp | Phe | Phe | Ser | Cys | Thr | Tyr | Gly | Ala | Gly | Gly | Ser | Thr |     |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| cgt | gac | cgc | acg | ctg | aac | acc | gtt | ctg | cag | ctg | gaa | agc | gaa | gtc | aaa | 192 |
| Arg | Asp | Arg | Thr | Leu | Asn | Thr | Val | Leu | Gln | Leu | Glu | Ser | Glu | Val | Lys |     |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| atc | ccc | gcc | gca | ccg | cac | ctg | tcg | tgc | gtc | ggc | gac | agc | aag | gac | gac | 240 |
| Ile | Pro | Ala | Ala | Pro | His | Leu | Ser | Cys | Val | Gly | Asp | Ser | Lys | Asp | Asp |     |
|     | 65  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ctg | cgc | ggc | ctg | ctg | aac | gag | tac | aag | gcc | gcc | ggc | atc | aag | cgc | atc | 288 |
| Leu | Arg | Gly | Leu | Leu | Asn | Glu | Tyr | Lys | Ala | Ala | Gly | Ile | Lys | Arg | Ile |     |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gtc | gcc | ctg | cgc | ggg | gac | ctg | ccg | tcc | ggc | atg | ggc | atg | acc | agc | ggc | 336 |
| Val | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Leu | Pro | Ser | Gly | Met | Gly | Met | Thr | Ser | Gly |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gag | ctg | cgt | cac | gcc | aat | gaa | ctg | gtt | gaa | ttc | att | cgt | gaa | gaa | acc | 384 |
| Glu | Leu | Arg | His | Ala | Asn | Glu | Leu | Val | Glu | Phe | Ile | Arg | Glu | Glu | Thr |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ggc | aat | cat | ttc | cac | atc | gaa | gtc | gcc | gcc | tac | ccg | gag | atg | cat | ccg | 432 |
| Gly | Asn | His | Phe | His | Ile | Glu | Val | Ala | Ala | Tyr | Pro | Glu | Met | His | Pro |     |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| caa | gcg | cgc | aac | tac | gaa | gac | gat | ctc | gcc | aac | ttc | gtg | cgc | aag | gcc | 480 |
| Gln | Ala | Arg | Asn | Tyr | Glu | Asp | Asp | Leu | Ala | Asn | Phe | Val | Arg | Lys | Ala |     |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| cgt | gcc | ggc | gcc | gac | agc | gcg | atc | acc | cag | tac | ttc | ttc | aac | gcc | gac | 528 |
| Arg | Ala | Gly | Ala | Asp | Ser | Ala | Ile | Thr | Gln | Tyr | Phe | Phe | Asn | Ala | Asp |     |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |     |

agc tac ttc tac ttc gtc gac cgt ttg cag gcg ctg ggc gtg gac att 576  
 Ser Tyr Phe Tyr Phe Val Asp Arg Leu Gln Ala Leu Gly Val Asp Ile  
                   180                  185                  190

ccg gtg gta ccg ggg atc atg ccg atc acc aac tac agc aaa ctc gcg 624  
 Pro Val Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala  
                   195                  200                  205

cgc ttc tcc gat gcc tgc ggt gcg gaa atc ccg cgc tgg atc cgc aag 672  
 Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Arg Lys  
                   210                  215                  220

cag ctg gaa gcc tac ggc gat gac agc caa agc att cag cgc ttt ggc 720  
 Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly  
                   225                  230                  235                  240

gaa caa gtc gtc acg gaa atg tgc gaa cgc ctg ctg caa ggc ggc gcg 768  
 Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala  
                   245                  250                  255

ccg ggc ctg cac ttc tat tcc atg aac cag gcc gaa cca agc ctg gcg 816  
 Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala  
                   260                  265                  270

atc tgg aac aac ctg aag ctg ccg cgc taa 846  
 Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg  
                   275                  280

<210> 20

<211> 281

<212> PRT

<213> *Pseudomonas fluorescens*

<400> 20

Met Ser Gln Asp Arg Arg Tyr Ser Phe Glu Phe Phe Pro Thr Lys Thr  
           1                  5                  10                  15

Asp Ala Gly His Glu Lys Leu Leu Ala Thr Ala Arg Gln Leu Ala Thr  
                   20                  25                  30

Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr  
           35                  40                  45

Arg Asp Arg Thr Leu Asn Thr Val Leu Gln Leu Glu Ser Glu Val Lys  
           50                  55                  60

Ile Pro Ala Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Asp Asp  
           65                  70                  75                  80

Leu Arg Gly Leu Leu Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Ile Lys Arg Ile  
                   85                  90                  95

Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Met Thr Ser Gly  
           100                  105                  110

Glu Leu Arg His Ala Asn Glu Leu Val Glu Phe Ile Arg Glu Glu Thr  
           115                  120                  125

Gly Asn His Phe His Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Met His Pro  
           130                  135                  140

Gln Ala Arg Asn Tyr Glu Asp Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Ala  
145 150 155 160

Arg Ala Gly Ala Asp Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp  
165 170 175

Ser Tyr Phe Tyr Phe Val Asp Arg Leu Gln Ala Leu Gly Val Asp Ile  
180 185 190

Pro Val Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala  
195 200 205

Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Arg Lys  
210 215 220

Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly  
225 230 235 240

Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala  
245 250 255

Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala  
260 265 270

Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg  
275 280

<210> 21

<211> 1812

<212> DNA

<213> Schizosaccharomyces pombe

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1809)

<223> RSO01645

<400> 21

atg aaa ata agt gac aaa tta ctt cac ccg gat tgg aag gaa aaa gtt 48  
Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val  
1 5 10 15

act tac agt tat gaa ttt ttt cct cca aaa acg agc act ggt gtc caa 96  
Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln  
20 25 30

aat ctt tac aat cgt ata gat cgc atg aag act tgg ggt cgt ccc atg 144  
Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met  
35 40 45

ttt gtc gat gtg act tgg ggt gct ggt ggt act tct tca gaa ctg act 192  
Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr  
50 55 60

cct gga atc gtt aat gta att caa aca gat ttt gaa gtg gat act tgc 240  
Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys  
65 70 75 80

atg cat ttg act tgt acg aac atg tcc aca gaa atg att gac gca gct 288  
Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala  
85 90 95

|   |      |
|---|------|
| ttg aaa cgg gct cat gaa aca ggg tgt cgt aac ata ttg gcc ctt aga | 336  |
| Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg |      |
| 100 105 110   |      |
| ggt gat cct gtt aaa gat aca gac tgg act gaa ggc gaa agt gga ttc | 384  |
| Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe |      |
| 115 120 125   |      |
| cgg tat gct tca gac tta gtt aga tat att cgc aca cat tat aat gat | 432  |
| Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp |      |
| 130 135 140   |      |
| gaa ttc tgt att ggt gta gct ggc tat cca gaa gga tat tca cca gat | 480  |
| Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp |      |
| 145 150 155 160   |      |
| gat gac att gat gaa agc ata aag cat ctg aaa tta aaa gtc gat gaa | 528  |
| Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu |      |
| 165 170 175   |      |
| ggt gct gat ttt atc gtt act caa atg ttt tat gat gta gac aat ttt | 576  |
| Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe |      |
| 180 185 190   |      |
| atc gca tgg gtc gat aaa gtg cgt gca gca gga ata aat atc cct ata | 624  |
| Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile |      |
| 195 200 205   |      |
| ttt ccg ggc att atg cct att cag gca tgg gat tcc ttt att cgg aga | 672  |
| Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg |      |
| 210 215 220   |      |
| gcg aaa tgg agc ggt gtt aaa att ccc cag cat ttt atg gat act cta | 720  |
| Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu |      |
| 225 230 235 240   |      |
| gtc cca gtt aaa gac gat gat gaa gga gtc cgt gag cgt ggt gtt gag | 768  |
| Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu |      |
| 245 250 255   |      |
| ctc ata gtc gaa atg tgc cgt aag ctt ata gct agt ggc att acg aga | 816  |
| Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg |      |
| 260 265 270   |      |
| ctt cat ttt tac act atg aat tta gaa aag gcc gtt aaa atg att att | 864  |
| Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile |      |
| 275 280 285   |      |
| gaa cga tta ggt tta tta gat gaa aac ttg gct cct ata gtg gat act | 912  |
| Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr |      |
| 290 295 300   |      |
| aat aac gtc gag tta acc aat gct tcc agt caa gat cgt cgg ata aat | 960  |
| Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn |      |
| 305 310 315 320   |      |
| gaa ggt gta cgg ccc att ttc tgg cgc act cgt aat gaa agt tat gtc | 1008 |
| Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val |      |
| 325 330 335   |      |
| tcg cgt act gat cag tgg gac gaa tta ccg cat ggt cgt tgg ggt gac | 1056 |
| Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp |      |
| 340 345 350   |      |

|   |      |
|---|------|
| tct cgt agc cct gct ttt ggc gaa ttt gat gct att aga tat ggt ctt | 1104 |
| Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu |      |
| 355 360 365   |      |
| cgt atg tct ccc aag gag atc aca aca tcg tgg ggg tct cct aaa tct | 1152 |
| Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser |      |
| 370 375 380   |      |
| tac tcg gaa atc ggc gat ttg ttt gcc agg tac tgt gaa aaa aag att | 1200 |
| Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile |      |
| 385 390 395 400   |      |
| agc tcc ctc cct tgg agt gat ctt ccc ata tcc gat gaa gcc gac ttg | 1248 |
| Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu |      |
| 405 410 415   |      |
| att cgg gat caa ctt cta agt atg aat aga aac gct ttc ctt act ata | 1296 |
| Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile |      |
| 420 425 430   |      |
| t tct caa cct gct ctt aac ggc gaa aag agt tca cat cct gtt ttt   | 1344 |
| sn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe  |      |
| 435 440 445   |      |
| gga tgg gga cca cct aat ggt tat gtt ttc caa aaa cca tac gtt gag | 1392 |
| Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu |      |
| 450 455 460   |      |
| ttt ttc gtt cac ccc tca ctc ttg aat gaa ctc aaa gaa acc gtt aaa | 1440 |
| Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys |      |
| 465 470 475 480   |      |
| aag ctt aat tca gtt tcc tac ttt gtt aca aac aag aat gga gac ttg | 1488 |
| Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu |      |
| 485 490 495   |      |
| gat acc aac tca caa tat gag att cca aat gcg gtt aca tgg ggt gtt | 1536 |
| Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val |      |
| 500 505 510   |      |
| tc cct aat cgt gag att atc caa cct act att gtc gag tca acc tct  | 1584 |
| ne Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser  |      |
| 515 520 525   |      |
| ttt ctt gct tgg aaa gat gaa gcc tat tca ttg ggc atg gaa tgg gct | 1632 |
| Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala |      |
| 530 535 540   |      |
| aat gca tat agc cct gat tca att tct cgt aaa ctt ttg gtt tct atg | 1680 |
| Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met |      |
| 545 550 555 560   |      |
| atg aag gaa tgg ttc ctt tgt gtc ata gtt gat aac gat ttt caa aat | 1728 |
| Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn |      |
| 565 570 575   |      |
| ggg caa tct ttg ttt gat gtt ttt aac aaa atg aga tct tta aaa gac | 1776 |
| Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp |      |
| 580 585 590   |      |
| atc cat cct gag cta tat tat gca aat gca tca taa                 | 1812 |
| Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser                     |      |



595

600

<210> 22  
 <211> 603  
 <212> PRT  
 <213> Schizosaccharomyces pombe

&lt;400&gt; 22

Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val  
 1 5 10 15

Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln  
 20 25 30

Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met  
 35 40 45

Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr  
 50 55 60

Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys  
 65 70 75 80

Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala  
 85 90 95

Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg  
 100 105 110

Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe  
 115 120 125

Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp  
 130 135 140

Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp  
 145 150 155 160

Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu  
 165 170 175

Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe  
 180 185 190

Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile  
 195 200 205

Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg  
 210 215 220

Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu  
 225 230 235 240

Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu  
 245 250 255

Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg  
 260 265 270

Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile  
 275 280 285

Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr  
 290 295 300  
 Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn  
 305 310 315 320  
 Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val  
 325 330 335  
 Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp  
 340 345 350  
 Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu  
 355 360 365  
 Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser  
 370 375 380  
 Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile  
 385 390 395 400  
 Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu  
 405 410 415  
 Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile  
 420 425 430  
 Asn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe  
 435 440 445  
 Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu  
 450 455 460  
 Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys  
 465 470 475 480  
 Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu  
 485 490 495  
 Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val  
 500 505 510  
 Phe Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser  
 515 520 525  
 Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala  
 530 535 540  
 Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met  
 545 550 555 560  
 Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn  
 565 570 575  
 Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp  
 580 585 590  
 Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser  
 595 600

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1800

M/43126

MetF

&lt;212&gt; DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1797)

&lt;223&gt; RSC08323

&lt;400&gt; 23

|   |     |
|---|-----|
| atg aag atc aca gaa aaa tta gag caa cat aga cag acc tct ggc aag | 48  |
| Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys |     |
| 1 5 10 15   |     |
| ccc act tac tca ttc gag tac ttc gtc ccg aag act aca caa ggt gta | 96  |
| Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val |     |
| 20 25 30  |     |
| cag aac ctg tat gac cgg atg gac cgg atg tac gag gct tct ttg ccc | 144 |
| Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro |     |
| 35 40 45  |     |
| aaa ttt att gac atc acc tgg aat gca ggc ggt gga cgg ttg tca cat | 192 |
| Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Gly Arg Leu Ser His |     |
| 50 55 60  |     |
| ctg tcc acg gac ttg gtt gcg aca gcg cag tct gtg ctt ggt ttg gaa | 240 |
| Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu |     |
| 65 70 75 80   |     |
| acg tgc atg cac ctt acc tgc acc aat atg ccc att tcg atg att gac | 288 |
| Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp |     |
| 85 90 95  |     |
| gac gct tta gaa aac gct tat cac tcc ggt tgc cag aac atc cta gcg | 336 |
| Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala |     |
| 100 105 110   |     |
| ctg aga gga gat cct cct agg gac gca gaa aac tgg act ccc gtt gaa | 384 |
| Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu |     |
| 115 120 125   |     |
| gtg ggc ttc cag tat gcc aag gac ttg att aag tat atc aag tcc aag | 432 |
| Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys |     |
| 130 135 140   |     |
| tac ggt gac cat ttc gct atc ggc gtt gcc ggc tac ccg gag tgc cat | 480 |
| Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His |     |
| 145 150 155 160   |     |
| ccg gag ttg cct aac aaa gac gtg aag ctt gat ctc gag tat ttg agc | 528 |
| Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser |     |
| 165 170 175   |     |
| aga aga tcg acc ggc ggc gac ttc atc atc act cag atg ttt tac gat | 576 |
| Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp |     |
| 180 185 190   |     |
| gtt gat aat tta ctc aac tgg tgt tcc caa gtt aga gct gcg ggc atg | 624 |
| Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met |     |
| 195 200 205   |     |
| gac gtg ccc att att ccc ggg atc atg ccg atc act acc tac gcg gcc | 672 |

|   |      |
|---|------|
| Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala |      |
| 210 215 220   |      |
| ttc ttg aga agg atc caa tgg ggc caa atc tcc atc cct caa cat ttc | 720  |
| Phe Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe |      |
| 225 230 235 240   |      |
| tcg tcc cga ttg gat cct atc aag gac gat gac gag ttg gtc cgt gat | 768  |
| Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp |      |
| 245 250 255   |      |
| atc gga act aac ttg atc gtg gaa atg tgt caa aaa ttg ctc gac agt | 816  |
| Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser |      |
| 260 265 270   |      |
| ggc tac gtt tct cac ttg cac atc tac acc atg aac ttg gaa aaa gcg | 864  |
| Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala |      |
| 275 280 285   |      |
| cct ctc atg att ctg gaa aga ttg aac att cta cct acg gaa tca gag | 912  |
| Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu |      |
| 290 295 300   |      |
| ttc aat gca cat cca ttg gcc gtg ttg cca tgg aga aaa tct ttg aat | 960  |
| Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn |      |
| 305 310 315 320   |      |
| cca aag cgt aaa aac gag gaa gtc aga cct atc ttc tgg aag aga aga | 1008 |
| Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg |      |
| 325 330 335   |      |
| cct tac tcc tat gtc gca aga acc tct caa tgg gcc gtg gac gaa ttc | 1056 |
| Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe |      |
| 340 345 350   |      |
| ccc aac ggt aga ttc ggt gat tcg tct tct cct gcg ttc ggt gac ttg | 1104 |
| Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu |      |
| 355 360 365   |      |
| gat ctg tgt ggt tca gac ttg atc agg caa tca gcg aac aaa tgt ctc | 1152 |
| Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu |      |
| 370 375 380   |      |
| gaa tta tgg tcc acc cct act tcc atc aac gac gtc gcc ttc ttg gtc | 1200 |
| Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val |      |
| 385 390 395 400   |      |
| atc aac tac ttg aat gga aac ttg aag tgt tta cct tgg agt gat atc | 1248 |
| Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile |      |
| 405 410 415   |      |
| ccc atc aat gat gaa ata aat cca atc aaa gca cac ttg att gag ctg | 1296 |
| Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu |      |
| 420 425 430   |      |
| aac cag cat tct atc atc act ata aac tct caa cct caa gtc aac ggc | 1344 |
| Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly |      |
| 435 440 445   |      |
| att agg tcc aat gac aaa att cat ggt tgg gga ccc aag gat ggt tac | 1392 |
| Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr |      |
| 450 455 460   |      |

gtt tac cag aag caa tat ttg gaa ttt atg ttg ccc aag act aag ttg 1440  
Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu  
465 470 475 480

ccc aag ttg att gac acc ttg aaa aac aat gag ttc ttg acc tac ttc 1488  
Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe  
485 490 495

gcc atc gac tct caa ggt gac ctg cta agt aat cat cca gac aac tcc 1536  
Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser  
500 505 510

aag tcc aac gct gtg act tgg ggt att ttc ccc ggc aga gaa att ctt 1584  
Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu  
515 520 525

caa cct acc att gtc gag aaa att tcg ttc tta gcg tgg aag gag gag 1632  
Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu  
530 535 540

ttc tat cat atc ttg aat gaa tgg aaa cta aac atg aat aaa tac gat 1680  
Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp  
545 550 555 560

aaa ccg cat agt gcc caa ttc att cag tcc ttg att gac gat tac tgc 1728  
Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys  
565 570 575

ttg gtc aat att gtt gac aat gac tac att tct cca gat gat caa atc 1776  
Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile  
580 585 590

cat tcc atc cta cta agc cta taa 1800  
His Ser Ile Leu Leu Ser Leu  
595

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 599

&lt;212&gt; PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

&lt;400&gt; 24

Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys  
1 5 10 15

Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val  
20 25 30

Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro  
35 40 45

Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Gly Arg Leu Ser His  
50 55 60

Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu  
65 70 75 80

Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp  
85 90 95

Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala  
100 105 110

Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu  
 115 120 125  
 Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys  
 130 135 140  
 Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His  
 145 150 155 160  
 Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser  
 165 170 175  
 Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp  
 180 185 190  
 Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met  
 195 200 205  
 Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala  
 210 215 220  
 Leu Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp  
 245 250 255  
 Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser  
 260 265 270  
 Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala  
 275 280 285  
 Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu  
 290 295 300  
 Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg  
 325 330 335  
 Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe  
 340 345 350  
 Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu  
 355 360 365  
 Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu  
 370 375 380  
 Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val  
 385 390 395 400  
 Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile  
 405 410 415  
 Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu  
 420 425 430  
 Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly  
 435 440 445

Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr  
450 455 460

Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu  
465 470 475 480

Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe  
485 490 495

Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser  
500 505 510

Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu  
515 520 525

Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu  
530 535 540

Phe Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp  
545 550 555 560

Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys  
565 570 575

Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile  
580 585 590

His Ser Ile Leu Leu Ser Leu  
595

<210> 25

<211> 897

<212> DNA

<213> Erwinia carotovora

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (894)

<223> REO00089

<400> 25

atg agc ttt ttt cac gca aac cag cgg gaa gcg ctg aat caa agt ctg 48  
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
1 5 10 15

gcg gaa ttg cag gga cga att aat gtg tca ttt gaa ttt ttc ccg cca 96  
Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
20 25 30

cgt acc agc gat atg gaa gaa acc ctg tgg agc tct atc gat cga ctg 144  
Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu  
35 40 45

agc agc ctg aag ccc aag ttt gtt tcc gtg act tac ggg gcg aat tct 192  
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
50 55 60

ggc gag cgt gac cgt act cac agc att atc aaa acg att aaa gag cgt 240  
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Thr Ile Lys Glu Arg  
65 70 75 80

acc ggt ctg gaa gcg gca cct cac ctg acc tgc atc gat gct tca cgc 288  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg  
                     85                    90                    95

gaa cag ctg cgt gaa atc gct cag gat tac tgg gag agt ggt atc cgc 336  
 Glu Gln Leu Arg Glu Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Glu Ser Gly Ile Arg  
                     100                    105                    110

cat att gtc gcg ctg cgc ggc gac ttg cct caa gaa ggc ggc aaa ccg 384  
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Gln Glu Gly Gly Lys Pro  
                     115                    120                    125

gac atg tac gcg gcg gat ctg gtt tcc ctg ctg aaa gag gtc ggt gat 432  
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ser Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp  
                     130                    135                    140

ttc gat att tcc gtt gcc gcc tat cct gaa gta cac cct gaa gcg aaa 480  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
                     145                    150                    155                    160

gac gcg cag gct gac ctg att aac ctg aaa cac aag att gat gcc ggc 528  
 Thr Ala Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys His Lys Ile Asp Ala Gly  
                     165                    170                    175

gcg aat cgc gct atc aca cag ttc ttt ttc gac gta gaa agc tat ttg 576  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
                     180                    185                    190

cgg ttc cgt gac cgc tgc gtg gca acg ggc atc gat gta gaa att gtg 624  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala Thr Gly Ile Asp Val Glu Ile Val  
                     195                    200                    205

ccg ggc att ctg cca gta tgc aac ttc aaa cag ttg cag aaa ttt gcc 672  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Phe Ala  
                     210                    215                    220

acg atg acc aac gtc cgt gtg ccg aac tgg atg acg acc atg ttt gac 720  
 Thr Met Thr Asn Val Arg Val Pro Asn Trp Met Thr Thr Met Phe Asp  
                     225                    230                    235                    240

ggc ctg gat aac gat cca gaa acc cgc aaa atg gtg ggg gcg tct atc 768  
 Gly Leu Asp Asn Asp Pro Glu Thr Arg Lys Met Val Gly Ala Ser Ile  
                     245                    250                    255

gcc atg gat atg gtg aaa att ctc agc cgc gaa ggc gta aaa gat ttc 816  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
                     260                    265                    270

cat ttc tat acg ctg aac cgc gcg gag ctg agc tat gcg att tgc cat 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Leu Ser Tyr Ala Ile Cys His  
                     275                    280                    285

acg ctg ggc gtc cgc cct gat gta gca cgc tga 897  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Asp Val Ala Arg  
                     290                    295

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 298

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Erwinia carotovora

&lt;400&gt; 26



Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45  
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60  
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Thr Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg  
 85 90 95  
 Glu Gln Leu Arg Glu Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Glu Ser Gly Ile Arg  
 100 105 110  
 s Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Gln Glu Gly Gly Lys Pro  
 115 120 125  
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ser Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp  
 130 135 140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys His Lys Ile Asp Ala Gly  
 165 170 175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala Thr Gly Ile Asp Val Glu Ile Val  
 195 200 205  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Phe Ala  
 210 215 220  
 Thr Met Thr Asn Val Arg Val Pro Asn Trp Met Thr Thr Met Phe Asp  
 225 230 235 240  
 Gly Leu Asp Asn Asp Pro Glu Thr Arg Lys Met Val Gly Ala Ser Ile  
 245 250 255  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Leu Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Asp Val Ala Arg  
 290 295

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 888

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Klebsiella pneumoniae

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(885)  
 <223> RKP07488

<400> 27

|   |     |
|---|-----|
| atg agc ttt ttt cac gcc aat cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg | 48  |
| Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu |     |
| 1 5 10 15   |     |
| gcg gaa gtc cag gcc cag att aat gtg tct ttt gaa ttc ttt ccg ccg | 96  |
| Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro |     |
| 20 25 30  |     |
| cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aaa tcc atc gat cgc ctg | 144 |
| Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu |     |
| 35 40 45  |     |
| agc agt ctg aaa ccg aag ttt gtt tgc gta acc tat ggc gcg aac tct | 192 |
| Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser |     |
| 50 55 60  |     |
| gcg gag cgc gat cgc acc cac agc atc atc aaa ggc att aaa gag cga | 240 |
| Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg |     |
| 65 70 75 80   |     |
| acc ggt ctg gaa gca gcg ccg cac ctg acc tgt atc gat gcc agc cgc | 288 |
| Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg |     |
| 85 90 95  |     |
| gat gag ttg cgc act atc gct cag gat tac tgg aac aac ggt atc cgc | 336 |
| Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg |     |
| 100 105 110   |     |
| cat atc gtc gcc ctg cgc gcc gac ctg ccg ccg ggc agc ggt aaa ccg | 384 |
| His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro |     |
| 115 120 125   |     |
| gat atg tac gcc gcc gat ctg gtg acg ttg ctg aaa gag gta gcc gat | 432 |
| Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp |     |
| 130 135 140   |     |
| ttt gat atc tct gtc gcc gcg tat ccg gaa gtg cat ccg gag gcg aaa | 480 |
| Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys |     |
| 145 150 155 160   |     |
| agc gcg cag gcg gat tta ctg aac ctg aag cgc aaa gta gaa gca ggg | 528 |
| Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly |     |
| 165 170 175   |     |
| gcc aac cgc gcg atc acc cag ttc ttc ttc gat gtg gaa agc tac ctg | 576 |
| Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu |     |
| 180 185 190   |     |
| cgt ttt cgc gat cgc tgc gtc tgc gca gcc atc gac gtg gaa atc att | 624 |
| Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile |     |
| 195 200 205   |     |
| ccc ggt atc ctg ccg gtc tcc aac ttt aaa cag gcg aaa aag ttt gcg | 672 |
| Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala |     |
| 210 215 220   |     |
| gat atg acc aac gtc cgt atc ccg gtg tgg atg tca aaa atg ttc gaa | 720 |

Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Val Trp Met Ser Lys Met Phe Glu  
 225 230 235 240  
 ggg ctg gat aac gac gcc gaa acc cgt caa ctg gtg ggg gcg aat atc 768  
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Gln Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255  
 gcc atg gac atg gtg aag atc tta agc cgg gaa ggg gtc aag gat ttc 816  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270  
 cac ttc tac acc ctg aac cgc gcc gag atg agc tac gcc atc tgc cat 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285  
 acg ctg ggc gta cgc ccg gcc tga 888  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Ala  
 290 295

<210> 28  
 <211> 295  
 <212> PRT

<213> *Klebsiella pneumoniae*

<400> 28

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45  
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60  
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg  
 85 90 95  
 Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
 100 105 110  
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
 115 120 125  
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp  
 130 135 140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly  
 165 170 175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile

| 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Gly | Ile | Leu | Pro | Val | Ser | Asn | Phe | Lys | Gln | Ala | Lys | Lys | Phe | Ala |
| 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Asp | Met | Thr | Asn | Val | Arg | Ile | Pro | Val | Trp | Met | Ser | Lys | Met | Phe | Glu |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Gly | Leu | Asp | Asn | Asp | Ala | Glu | Thr | Arg | Gln | Leu | Val | Gly | Ala | Asn | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Met | Asp | Met | Val | Lys | Ile | Leu | Ser | Arg | Glu | Gly | Val | Lys | Asp | Phe |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| His | Phe | Tyr | Thr | Leu | Asn | Arg | Ala | Glu | Met | Ser | Tyr | Ala | Ile | Cys | His |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Leu | Gly | Val | Arg | Pro | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 29

<211> 891

<212> DNA

<213> Salmonella typhi

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(888)

<223> RTY02485

<400> 29

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| atg | agc | ttt | ttt | cac | gcc | aac | cag | cgg | gaa | gcc | ctg | aat | cag | agc | ctg | 48 |
| Met | Ser | Phe | Phe | His | Ala | Asn | Gln | Arg | Glu | Ala | Leu | Asn | Gln | Ser | Leu |    |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |    |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| gcg | gaa | gta | cag | ggt | cag | att | aac | ggt | tcg | ttt | gaa | ttt | ttc | ccg | ccg | 96 |
| Ala | Glu | Val | Gln | Gly | Gln | Ile | Asn | Val | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | Pro | Pro |    |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |    |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| cgc | acc | agt | gaa | atg | gag | caa | acc | ctg | tgg | aac | tcc | atc | gat | cgc | ctg | 144 |
| Arg | Thr | Ser | Glu | Met | Glu | Gln | Thr | Leu | Trp | Asn | Ser | Ile | Asp | Arg | Leu |     |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| agc | agc | ctg | aaa | ccg | aag | ttt | ggt | tcg | gta | acg | tat | ggc | gcc | aac | tcc | 192 |
| Ser | Ser | Leu | Lys | Pro | Lys | Phe | Val | Ser | Val | Thr | Tyr | Gly | Ala | Asn | Ser |     |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ggg | gaa | cgt | gac | cgc | act | cat | agt | ggt | att | aaa | ggc | att | aaa | gag | cgt | 240 |
| Gly | Glu | Arg | Asp | Arg | Thr | His | Ser | Val | Ile | Lys | Gly | Ile | Lys | Glu | Arg |     |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| act | ggg | ctt | gag | gcc | gcg | ccg | cac | ctt | acc | tgt | att | gac | gcc | acg | cgc | 288 |
| Thr | Gly | Leu | Glu | Ala | Ala | Pro | His | Leu | Thr | Cys | Ile | Asp | Ala | Thr | Arg |     |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gat | gaa | ctg | cgc | acc | atc | gcc | cgc | gac | tac | tgg | aat | aac | ggt | atc | cgc | 336 |
| Asp | Glu | Leu | Arg | Thr | Ile | Ala | Arg | Asp | Tyr | Trp | Asn | Asn | Gly | Ile | Arg |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| cac | att | ggt | gct | ttg | cgc | ggc | gat | ttg | ccg | ccg | ggc | agc | ggt | aag | ccg | 384 |
| His | Ile | Val | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Leu | Pro | Pro | Gly | Ser | Gly | Lys | Pro |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |

gag atg tac gcc gcc gat ctg gtt ggt ttg ctc aaa gag gtg gtc gat 432  
 Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp  
 130 135 140  
  
 ttc gat att tca gta gcg gcc tat ccg gag gta cat ccg gaa gcg aaa 480  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160  
  
 agc gcg cag gcc gat ctg ctt aat ctg aag cgt aaa gtg gat gct ggc 528  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
 165 170 175  
  
 gct aac cgc gcg ata acc caa ttt ttc ttc gat gtg gaa agc tat ctg 576  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190  
  
 cgt ttt cgc gac cgc tgt gtt tcc gcc ggt atc gac gta gaa att att 624  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205  
  
 c ggc att tta ccg gtg tct aac ttt aaa cag gcg aaa aaa ttt gcc 672  
 ro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220  
  
 gat atg acc aat gtc cgc att ccg tcc tgg atg tgc ctg atg ttt gag 720  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
 225 230 235 240  
  
 ggg ctg gat gat gac gca gaa acc cgc aag ctg gtg ggc gct aac att 768  
 Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255  
  
 gcg atg gac atg gtg aaa att tta agc cgc gaa gga gtg aag gat ttc 816  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270  
  
 cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285  
  
 cg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa 891  
 hr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
 290 295

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 296

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Salmonella typhi

&lt;400&gt; 30

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg  
 85 90 95  
 Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
 100 105 110  
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
 115 120 125  
 Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp  
 130 135 140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
 165 170 175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
 225 230 235 240  
 Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
 290 295

<210> 31  
 <211> 891  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella typhimurium

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(888)  
 <223> RSY00593

<400> 31  
 atg agc ttt ttt cac gcc aac cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg 48  
 Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15  
 gcg gaa gta cag ggt cag att aac gtt tcg ttt gaa ttt ttc ccg ccg 96

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ala | Glu | Val | Gln | Gly | Gln | Ile | Asn | Val | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | Pro | Pro |     |  |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| cgc | acc | agt | gaa | atg | gag | caa | acc | ctg | tgg | aac | tcc | atc | gat | cgc | ctg | 144 |  |
| Arg | Thr | Ser | Glu | Met | Glu | Gln | Thr | Leu | Trp | Asn | Ser | Ile | Asp | Arg | Leu |     |  |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     | 45  |     |     |     |     |     |  |
| agc | agt | ctg | aaa | ccg | aag | ttt | gtt | tcg | gta | acg | tat | ggc | gcc | aac | tcc | 192 |  |
| Ser | Ser | Leu | Lys | Pro | Lys | Phe | Val | Ser | Val | Thr | Tyr | Gly | Ala | Asn | Ser |     |  |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |     |  |
| ggg | gaa | cgc | gac | cgc | acc | cat | agc | gtt | att | aaa | ggc | atc | aaa | gag | cgt | 240 |  |
| Gly | Glu | Arg | Asp | Arg | Thr | His | Ser | Val | Ile | Lys | Gly | Ile | Lys | Glu | Arg |     |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |     |  |
| act | ggg | ctt | gag | gcc | gcg | ccg | cac | ctt | acc | tgt | att | gac | gcc | acg | cgc | 288 |  |
| Thr | Gly | Leu | Glu | Ala | Ala | Pro | His | Leu | Thr | Cys | Ile | Asp | Ala | Thr | Arg |     |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |     |  |
| gat | gaa | ctg | cgc | acc | atc | gcc | cgc | gac | tac | tgg | aac | aac | ggc | atc | cgc | 336 |  |
| asp | Glu | Leu | Arg | Thr | Ile | Ala | Arg | Asp | Tyr | Trp | Asn | Asn | Gly | Ile | Arg |     |  |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |     |  |
| cac | att | gtc | gct | ttg | cgc | ggc | gat | ttg | ccg | ccg | ggc | agc | ggc | aag | ccg | 384 |  |
| His | Ile | Val | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Leu | Pro | Pro | Gly | Ser | Gly | Lys | Pro |     |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |  |
| gag | atg | tac | gcc | gcc | gat | ctg | gtt | ggc | ttg | ctc | aaa | gag | gtg | gcc | gat | 432 |  |
| Glu | Met | Tyr | Ala | Ala | Asp | Leu | Val | Gly | Leu | Leu | Lys | Glu | Val | Ala | Asp |     |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |     |  |
| ttc | gat | att | tca | gta | gcg | gcc | tat | ccg | gag | gta | cat | ccg | gaa | gcg | aaa | 480 |  |
| Phe | Asp | Ile | Ser | Val | Ala | Ala | Tyr | Pro | Glu | Val | His | Pro | Glu | Ala | Lys |     |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |     |  |
| agc | gcg | cag | gcc | gat | ctg | ctt | aac | ctg | aag | cgt | aaa | gtg | gat | gct | ggc | 528 |  |
| Ser | Ala | Gln | Ala | Asp | Leu | Leu | Asn | Leu | Lys | Arg | Lys | Val | Asp | Ala | Gly |     |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |     |  |
| gct | aac | cgc | gcg | ata | acc | caa | ttt | ttc | ttc | gat | gtg | gaa | agc | tac | ctg | 576 |  |
| Ala | Asn | Arg | Ala | Ile | Thr | Gln | Phe | Phe | Phe | Asp | Val | Glu | Ser | Tyr | Leu |     |  |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |  |
| cgt | ttt | cgc | gac | cgc | tgt | gtt | tct | gcc | ggc | atc | gac | gta | gaa | att | att | 624 |  |
| Arg | Phe | Arg | Asp | Arg | Cys | Val | Ser | Ala | Gly | Ile | Asp | Val | Glu | Ile | Ile |     |  |
|     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |  |
| ccc | ggc | att | tta | ccg | gtg | tct | aac | ttt | aaa | cag | gca | aaa | aaa | ttt | gcc | 672 |  |
| Pro | Gly | Ile | Leu | Pro | Val | Ser | Asn | Phe | Lys | Gln | Ala | Lys | Lys | Phe | Ala |     |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |  |
| gat | atg | acc | aac | gtc | cgc | att | ccg | tcc | tgg | atg | tca | ctg | atg | ttt | gag | 720 |  |
| Asp | Met | Thr | Asn | Val | Arg | Ile | Pro | Ser | Trp | Met | Ser | Leu | Met | Phe | Glu |     |  |
|     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |     |  |
| ggg | ctg | gat | aac | gac | gca | gaa | acc | cgc | aag | ctg | gtg | ggc | gct | aac | att | 768 |  |
| Gly | Leu | Asp | Asn | Asp | Ala | Glu | Thr | Arg | Lys | Leu | Val | Gly | Ala | Asn | Ile |     |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |     |  |
| gcg | atg | gac | atg | gtg | aaa | att | tta | agc | cgt | gaa | gga | gtg | aag | gat | ttc | 816 |  |
| Ala | Met | Asp | Met | Val | Lys | Ile | Leu | Ser | Arg | Glu | Gly | Val | Lys | Asp | Phe |     |  |
|     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |     |     |  |

cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
           275                                  280                                  285

acg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa 891  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
           290                                  295

<210> 32

<211> 296

<212> PRT

<213> Salmonella typhimurium

<400> 32

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
       1                                  5                                  10                                  15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
                   20                                  25                                  30

G Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
           35                                  40                                  45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
       50                                  55                                  60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
       65                                  70                                  75                                  80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg  
                   85                                  90                                  95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
                   100                                  105                                  110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
           115                                  120                                  125

Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp  
       130                                  135                                  140

he Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
       145                                  150                                  155                                  160

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
                   165                                  170                                  175

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
                   180                                  185                                  190

Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
       195                                  200                                  205

Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
       210                                  215                                  220

Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
       225                                  230                                  235                                  240

Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
                   245                                  250                                  255



Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
                   260                  265                  270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
                   275                  280                  285  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
           290                  295

<210> 33  
 <211> 891  
 <212> DNA  
 <213> Escherichia coli

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(888)  
 <223> REC03839

<400> 33  
 g agc ttt ttt cac gcc agc cag cgg gat gcc ctg aat cag agc ctg 48  
 et Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
   1                  5                  10                  15  
 gca gaa gtc cag ggg cag att aac gtt tgc ttc gag ttt ttc ccg ccg 96  
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
                   20                  25                  30  
 cgt acc agt gaa atg gag cag acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctt 144  
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
           35                  40                  45  
 agc agc ctg aaa ccg aag ttt gta tgc gtg acc tat ggc gcg aac tcc 192  
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
           50                  55                  60  
 ggc gag cgc gac cgt acg cac agc att att aaa ggc att aaa gat cgc 240  
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg  
   65                  70                  75                  80  
 ct ggt ctg gaa gcg gca ccg cat ctt act tgc att gat gcg acg ccc 288  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro  
                   85                  90                  95  
 gac gag ctg cgc acc att gca cgc gac tac tgg aat aac ggt att cgt 336  
 Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
           100                  105                  110  
 cat atc gtg gcg ctg cgt ggc gat ctg ccg ccg gga agt ggt aag cca 384  
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
           115                  120                  125  
 gaa atg tat gct tct gac ctg gtg acg ctg tta aaa gaa gtg gca gat 432  
 Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp  
           130                  135                  140  
 ttc gat atc tcc gtg gcg gcg tat ccg gaa gtt cac ccg gaa gca aaa 480  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
   145                  150                  155                  160  
 agc gct cag gcg gat ttg ctt aat ctg aaa cgc aaa gtg gat gcc gga 528

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
165 170 175

gcc aac cgc gcg att act cag ttc ttc ttc gat gtc gaa agc tac ctg 576  
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
180 185 190

cgt ttt cgt gac cgc tgt gta tgc gcg ggc att gat gtg gaa att att 624  
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
195 200 205

ccg gga att ttg ccg gta tct aac ttt aaa cag gcg aag aaa ttt gcc 672  
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
210 215 220

gat atg acc aac gtg cgt att ccg gcg tgg atg gcg caa atg ttc gac 720  
Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp  
225 230 235 240

ggc ctg gat gat gat gcc gaa acc cgc aaa ctg gtt ggc gcg aat att 768  
Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
245 250 255

gcc atg gat atg gtg aag att tta agc cgt gaa gga gtg aaa gat ttc 816  
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
260 265 270

cac ttc tat acg ctt aac cgt gct gaa atg agt tac gcg att tgc cat 864  
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
275 280 285

acg ctg ggg gtt cga cct ggt tta taa 891  
Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
290 295

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 296

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Escherichia coli

&lt;400&gt; 34

Met Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg  
65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro  
85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
 115 120 125  
 Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp  
 130 135 140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
 165 170 175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220  
 p Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp  
 225 230 235 240  
 Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
 290 295

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 915

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Vibrio cholerae

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(912)

&lt;223&gt; RVC06433

&lt;400&gt; 35

gtg aca ctc ggt cac agg gag tac aag atg gga tac aca cac gct agc 48  
 Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser  
 1 5 10 15

cat atc gat gca ttg aac caa aac att gcg gag ctt tcc gac atc aat 96  
 His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn  
 20 25 30

gtt tcg ttt gag ttt ttt cca ccc agc tca cca caa atg gaa gaa acg 144  
 Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr  
 35 40 45

ctt tgg gga tcg gta cac cgt ctg aaa aca ctc caa ccg aaa ttt gtt 192  
 Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val  
 50 55 60

|   |     |
|---|-----|
| tcg gtc act tat ggt gca aac tct ggt gag cgt gac cgt act cac tcg | 240 |
| Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser |     |
| 65 70 75 80   |     |
| atc att aaa gcg atc aaa gat caa acc ggt tta att gcc gcg cca cac | 288 |
| Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His |     |
| 85 90 95  |     |
| ctg act tgt atc gat gcc act cgt gat gaa ctg atc cag atc gcc gat | 336 |
| Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp |     |
| 100 105 110   |     |
| gac tac tgg cat aac ggc atc cag aat att gtg gcg ctg cgt ggg gat | 384 |
| Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp |     |
| 115 120 125   |     |
| atc ccg gct ggc ggt ggt aag cca gag atg tac gcc tcc gat cta gtg | 432 |
| Ile Pro Ala Gly Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val |     |
| 130 135 140   |     |
| g ctg ctc aaa tca cgc cac gat ttt gat att tcc gtg gcc gcc ttc   | 480 |
| Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe     |     |
| 145 150 155 160   |     |
| cct gaa gtg cac cct gaa gcc aaa agc gcg caa gcg gac ctg ctc aat | 528 |
| Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn |     |
| 165 170 175   |     |
| tta aaa cgt aaa gtc gat gca ggt gcg aat cgt gcc atc acg cag ttt | 576 |
| Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe |     |
| 180 185 190   |     |
| ttc ttt gat gta gaa agc tac ctg cgt ttt cgc gat cgc tgt gtg gcc | 624 |
| Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala |     |
| 195 200 205   |     |
| gct ggg att gac gta gaa atc gtg cct ggc att ctg ccg gtt tct aac | 672 |
| Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn |     |
| 210 215 220   |     |
| ttt aaa caa gcg tcg cgc ttc gct gcg caa aac aac gtc aaa gtt ccg | 720 |
| Leu Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro |     |
| 225 230 235 240   |     |
| aat tgg atg gtg aag cag ttt gaa gga tta gaa gac gat cca gtg act | 768 |
| Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr |     |
| 245 250 255   |     |
| cgc cag ttg gta ggt gca agc caa gcc att gat atg gtg cgc gtg ctg | 816 |
| Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu |     |
| 260 265 270   |     |
| tgc cgt gaa ggg gtg aag gat ttc cac ttc tac acc cta aat cgt gcc | 864 |
| Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala |     |
| 275 280 285   |     |
| gaa atg act tac gcg tta tgc cac acc tta ggc gtt cgc cca caa gct | 912 |
| Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala |     |
| 290 295 300   |     |
| taa   | 915 |

<210> 36  
 <211> 304  
 <212> PRT  
 <213> *Vibrio cholerae*

<400> 36  
 Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser  
     1                    5                    10                    15  
 His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn  
             20                    25                    30  
 Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr  
             35                    40                    45  
 Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val  
     50                    55                    60  
 Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser  
     65                    70                    75                    80  
 Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His  
             85                    90                    95  
 Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp  
             100                    105                    110  
 Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp  
             115                    120                    125  
 Ile Pro Ala Gly Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val  
             130                    135                    140  
 Thr Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe  
     145                    150                    155                    160  
 Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn  
             165                    170                    175  
 Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe  
             180                    185                    190  
 Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala  
             195                    200                    205  
 Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn  
             210                    215                    220  
 Phe Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro  
     225                    230                    235                    240  
 Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr  
             245                    250                    255  
 Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu  
             260                    265                    270  
 Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala  
             275                    280                    285  
 Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala  
             290                    295                    300

<210> 37  
 <211> 879  
 <212> DNA  
 <213> Haemophilus influenzae

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(876)  
 <223> RH106620

<400> 37  
 atg agc tac gcg aaa gaa att gat aca tta aat caa cat att gca gat 48  
 Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp  
 1 5 10 15

ttt aat aaa aaa att aat gtc tcc ttt gaa ttt ttt cca cct aaa aac 96  
 Leu Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn  
 20 25 30

gaa aaa atg gaa acc ctt cta tgg gat tca att cat cgt tta aaa gta 144  
 Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val  
 35 40 45

tta aag cct aaa ttt gtg tca gtc act tac ggt gca aat tcg gga gaa 192  
 Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
 50 55 60

cgt gac cgc act cac ggc att gtg aaa gcc att aaa caa gaa act ggc 240  
 Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Ala Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
 65 70 75 80

tta gaa gcc gca cca cat tta act gga att gat gcc aca cct gaa gaa 288  
 Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Pro Glu Glu  
 85 90 95

tta aaa caa att gcg aga gat tat tgg gat agt ggt att cgc cgt att 336  
 Leu Lys Gln Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
 100 105 110

gtt gcg tta cgc ggt gac gaa cct aaa ggt tac gcg aaa aaa cca ttt 384  
 Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Ala Lys Lys Pro Phe  
 115 120 125

tat gcg tca gat ctt gtg gaa tta ctc cgt tct gtc gct gat ttt gat 432  
 Tyr Ala Ser Asp Leu Val Glu Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp  
 130 135 140

att tct gta gcc gct tat ccc gaa gtt cat cca gaa gca aaa tcc gca 480  
 Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
 145 150 155 160

caa gca gac tta att aat tta aaa cgt aaa att gat gca ggt gca aac 528  
 Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
 165 170 175

cac gtc att aca caa ttt ttc ttt gat att gaa aac tac cta cgt ttt 576  
 His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Leu Arg Phe  
 180 185 190

cgt gat cgt tgt gca tca att ggt att gat act gaa atc gta ccc ggt 624  
 Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Thr Glu Ile Val Pro Gly  
           195                                  200                                  205

att tta cct gtt act aat ttt aaa caa ctc caa aaa atg gca tca ttc 672  
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ser Phe  
           210                                  215                                  220

act aat gtg aaa att cca gcg tgg tta gtt aaa gcc tat gat ggt ttg 720  
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Leu Val Lys Ala Tyr Asp Gly Leu  
           225                                  230                                  235                                  240

gat aat gat cca act aca cgt aat ctt gtg gca gca agt gtt gca atg 768  
 Asp Asn Asp Pro Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Val Ala Met  
                                   245                                  250                                  255

gat atg gta aaa att tta tct cgc gaa ggc gtg aat gac ttc cac ttt 816  
 Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Asn Asp Phe His Phe  
                                   260                                  265                                  270

t aca tta aat cgt agt gaa tta act tat gct atc tgt cat atg tta 864  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Met Leu  
                                   275                                  280                                  285

ggt gta aga cct taa 879  
 Gly Val Arg Pro  
           290

<210> 38

<211> 292

<212> PRT

<213> Haemophilus influenzae

<400> 38

Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp  
           1                                  5                                  10                                  15

Phe Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn  
                                   20                                  25                                  30

Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val  
           35                                  40                                  45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
           50                                  55                                  60

Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Ala Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
           65                                  70                                  75                                  80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Pro Glu Glu  
                                   85                                  90                                  95

Leu Lys Gln Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
           100                                  105                                  110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Ala Lys Lys Pro Phe  
           115                                  120                                  125

Tyr Ala Ser Asp Leu Val Glu Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp  
           130                                  135                                  140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
 145 150 155 160  
 Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
 165 170 175  
 His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Leu Arg Phe  
 180 185 190  
 Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Thr Glu Ile Val Pro Gly  
 195 200 205  
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ser Phe  
 210 215 220  
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Leu Val Lys Ala Tyr Asp Gly Leu  
 225 230 235 240  
 Asp Asn Asp Pro Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Val Ala Met  
 245 250 255  
 Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Asn Asp Phe His Phe  
 260 265 270  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Met Leu  
 275 280 285  
 Gly Val Arg Pro  
 290

<210> 39  
 <211> 945  
 <212> DNA  
 <213> *Caulobacter crescentus*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(942)  
 <223> RCO02274

<400> 39  
 atg acc ctt ccg ccc acc cgc cgc gtg atc ggt ccc gtc gcc cga gcc 48  
 Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala  
 1 5 10 15  
 ggc gag cgg acc ggc cgt ccg cgc gtg tcg ttc gag ttc ttc ccg ccc 96  
 Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 aag act ccg cag atg gaa gag agc ctg tgg cag gcg atc aca cgc ctg 144  
 Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu  
 35 40 45  
 gcg ccg ctg gat ccg gcc ttc gtc tcg gtg acc tat ggc gcg ggc ggc 192  
 Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly  
 50 55 60  
 tcc acc cgc gag cgc acc cac cgc acc gtc aag cgg atc ctg gac gag 240  
 Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu  
 65 70 75 80



|   |     |
|---|-----|
| acc agc ctc aag ccc gcc gcg cac ctg acc tgc gtc ggc gcc agt cgc | 288 |
| Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg |     |
| 85 90 95  |     |
| gaa gag gtc gat gag gtc att cgc gag tac tgg gag acc ggg gtc cgt | 336 |
| Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg |     |
| 100 105 110   |     |
| cac atc gtt tgc ctg cgg ggc gat ccg ccg ccc ggc gag ggc ggc atc | 384 |
| His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile |     |
| 115 120 125   |     |
| ggc ggg gtc tat gtg ccg cgc gcc gac ggc tac gcc aac gcc aca gag | 432 |
| Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu |     |
| 130 135 140   |     |
| ttg acc aag gcc gtg cgc gcg atc gcg ccg ttc gag gtg ctg gtc ggg | 480 |
| Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly |     |
| 145 150 155 160   |     |
| ctc tat ccc gag aag cat ccc gag agc ccc tgc ttg gag cac gac atc | 528 |
| Al Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile  |     |
| 165 170 175   |     |
| gac gtc ttg aag cag aag gtc gac gcc ggc gcg acg ctg ggg atc agc | 576 |
| Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser |     |
| 180 185 190   |     |
| cag ttc ttc ttc gac ctc gac gcc ttc ctg cgc ttc gtc gac aag gtg | 624 |
| Gln Phe Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val |     |
| 195 200 205   |     |
| cgc gcg gcg ggc atc acc att ccg atc gtg ccg ggg atc atg ccg gtg | 672 |
| Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val |     |
| 210 215 220   |     |
| acc aat ttc gcg ggc ttg aag aag atg gcc gcc gcc tgc cag acg gcc | 720 |
| Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala |     |
| 225 230 235 240   |     |
| atc ccg tcc tgg ctg ggg aac ctg ttc gac ggg ctg gag aac gac gcg | 768 |
| Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala |     |
| 245 250 255   |     |
| gag acc cgc cgc ctg atc gcc tgt tgc gtg gcc gcc gag atg tgc gcc | 816 |
| Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala |     |
| 260 265 270   |     |
| aag ctg cag gaa cag ggt ttc gag gac ttc cac ttc tac acc ctg aac | 864 |
| Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn |     |
| 275 280 285   |     |
| cgg gcc gat ctc gtt tac gcc atc tgc cgt gtg ctg ggc gtg cgc gag | 912 |
| Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu |     |
| 290 295 300   |     |
| atc tgc ccc gcc gct tgc gag gtc gcc gca tga                     | 945 |
| Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala                         |     |
| 305 310   |     |

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 314

&lt;212&gt; PRT

<213> *Caulobacter crescentus*

&lt;400&gt; 40

Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala  
 1 5 10 15  
 Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu  
 35 40 45  
 Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly  
 50 55 60  
 Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu  
 65 70 75 80  
 Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg  
 85 90 95  
 Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg  
 100 105 110  
 His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile  
 115 120 125  
 Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu  
 130 135 140  
 Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly  
 145 150 155 160  
 Val Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile  
 165 170 175  
 Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser  
 180 185 190  
 Gln Phe Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val  
 195 200 205  
 Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val  
 210 215 220  
 Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala  
 225 230 235 240  
 Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala  
 245 250 255  
 Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala  
 260 265 270  
 Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn  
 275 280 285  
 Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu  
 290 295 300  
 Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala  
 305 310

<210> 41  
 <211> 885  
 <212> DNA  
 <213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(882)

<223> RAB00260

<400> 41

|   |     |
|---|-----|
| atg agt tac gca aaa gaa att gat aat cta aat caa cat tta gct gat | 48  |
| Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp |     |
| 1 5 10 15   |     |
| tta aac ggc aaa att aat gtc tct ttt gaa ttt ttc ccg ccg aaa agt | 96  |
| Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser |     |
| 20 25 30  |     |
| aaa aaa atg gaa aat ctt ctg tgg gaa tcc atc cat cgc tta aaa gtg | 144 |
| Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val |     |
| 35 40 45  |     |
| cta aaa ccg aaa ttt gta tcc gtg act tac ggc gcc aat tcc ggc gag | 192 |
| Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu |     |
| 50 55 60  |     |
| cgt gaa cgc act cac ggg gtg gtg aaa cgc att aag cag gaa acc ggt | 240 |
| Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly |     |
| 65 70 75 80   |     |
| ctg gaa gct gcg ccg cat tta acc ggt att gac gct acc tcg gac gaa | 288 |
| Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu |     |
| 85 90 95  |     |
| ttg cgt cgc att gcc aaa ggt tat tgg gat agc ggc att cgt cgc att | 336 |
| Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile |     |
| 100 105 110   |     |
| ctg gca ctg cgc ggt gac gag ccg aaa ggc tac gag aaa aaa cca ttt | 384 |
| Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe |     |
| 115 120 125   |     |
| tat gcc gcc gat tta gta gca tta tta cgt gac gta tca gat ttt gat | 432 |
| Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp |     |
| 130 135 140   |     |
| att tcc gtg gcg gca tac cct gag gtt cat ccg gaa gcc aaa tcg gcg | 480 |
| Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala |     |
| 145 150 155 160   |     |
| caa gcg gat tta att aat tta aaa cgt aaa att gat gcc ggt gcc aat | 528 |
| Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn |     |
| 165 170 175   |     |
| cat gtg atc aca caa ttc ttt ttc gat att gac agc tat ctg cgg ttc | 576 |
| His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe |     |
| 180 185 190   |     |
| cgc gat cgc tgc gcg tct atc ggt att gat gca gaa atc gtg ccg ggg | 624 |

Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly  
 195 200 205

att ctg ccg gtg acc aac ttc aaa caa tta caa aaa atg gca gca atc 672  
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile  
 210 215 220

act aat gtg aaa att cca gct tgg atg agc aaa atg tat gaa ggc ttg 720  
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu  
 225 230 235 240

gat gat gac caa acc acc cgc aat ctg gtg gcg gcg agc atc gcc atg 768  
 Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met  
 245 250 255

gac atg gtg cgt gta ctg tcc cgc gaa ggg gta aaa gac ttt cat ttc 816  
 Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
 260 265 270

tac acc ctg aat cgc agt gaa ctc acc tat gct att tgc cac acg tta 864  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu  
 275 280 285

ggc att cgt ccg agt ttg taa 885  
 Gly Ile Arg Pro Ser Leu  
 290

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 294

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Actinobacillus actinomycetemcomitans

&lt;400&gt; 42

Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp  
 1 5 10 15

Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser  
 20 25 30

Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val  
 35 40 45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
 50 55 60

Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
 65 70 75 80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu  
 85 90 95

Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
 100 105 110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe  
 115 120 125

Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp  
 130 135 140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
 145 150 155 160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
 165 170 175  
 His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe  
 180 185 190  
 Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly  
 195 200 205  
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile  
 210 215 220  
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu  
 225 230 235 240  
 Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met  
 245 250 255  
 Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
 260 265 270  
 Thr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu  
 275 280 285  
 Gly Ile Arg Pro Ser Leu  
 290

<210> 43  
 <211> 867  
 <212> DNA  
 <213> Rhodobacter

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (864)  
 <223> RRC03981

<400> 43  
 atg acc acg ccg cat gtc agc ttt gaa ttc ttc ccg ccg cag acg ctc 48  
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu  
 1 5 10 15  
 gac gcc tcg ttc cgg ctg tgg gag acg gcg cag gtt ctg gcg ccg ctc 96  
 Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu  
 20 25 30  
 aag ccc ggc ttc gtc tcg gtc acc tat ggc gcg ggc ggc acc acc cgc 144  
 Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg  
 35 40 45  
 aag ctg acg cat gag gcc gtg gcg gcg atc cac aag aat tac ggc ctg 192  
 Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu  
 50 55 60  
 aac gtc gcc gcg cat ctg acc tgc gtc gat gcg acc ccg gcc gaa acg 240  
 Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr  
 65 70 75 80  
 caa gag atc atc gac gcc tat gcc gag gct ggc gtc acc gag att gtc 288  
 Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val  
 85 90 95

|   |     |
|---|-----|
| gcg ctg cgc ggt gat ccg ccg aaa ggc gcc gcc cgc ttc acg ccg cat | 336 |
| Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His |     |
| 100 105 110   |     |
| ccg gac ggg ttt gcc tcc tcc gtg gac ctc atc gaa tgg ctg gcg cgg | 384 |
| Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg |     |
| 115 120 125   |     |
| gac ggc cgc ttc acg ctg cgc tgc ggc gcc tat ccg gaa ccg cat ccg | 432 |
| Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro |     |
| 130 135 140   |     |
| gaa gcc gcc gac acg ctg gcc gac gtg cgc tgg ctg aaa cgc aaa tgc | 480 |
| Glu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys |     |
| 145 150 155 160   |     |
| gag gcg ggg gcg acc tcc gcg atc acg caa ttc ttc ttt gaa gcc gag | 528 |
| Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Glu Ala Glu |     |
| 165 170 175   |     |
| c ttc ttc cgc ttc cgc gac gcc tgc gtg aag gaa ggg atc acc gcc   | 576 |
| Ar Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala  |     |
| 180 185 190   |     |
| aag atc atc ccg ggc atc ctg ccg atc cag tcc tgg aaa ggc gcc aag | 624 |
| Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys |     |
| 195 200 205   |     |
| agc ttt gcg cag cgc tgc ggc acc tcc atc ccg acc tgg gtc gaa gag | 672 |
| Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu |     |
| 210 215 220   |     |
| gcc ttt gac cat gcg atc cgc gac gac cgc gaa cag ctg ctg gcc acg | 720 |
| Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr |     |
| 225 230 235 240   |     |
| gcg ctg tgc acg gag ctc tgc gac aac ctg atc gcg ggc ggg gtg gag | 768 |
| Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Gly Val Glu |     |
| 245 250 255   |     |
| at ctg cat ttc tac acg ctg aac cgg ccg cag atg acc cgc gat gtc  | 816 |
| asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val |     |
| 260 265 270   |     |
| tgc cat gcg ctg ggc gtc aac ccg ggt gtg gtg ctg gaa aac gtc gcc | 864 |
| Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala |     |
| 275 280 285   |     |
| tga   | 867 |

<210> 44  
 <211> 288  
 <212> PRT  
 <213> Rhodobacter

<400> 44  
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu  
 1 5 10 15  
 Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu  
 20 25 30

```

Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg
    35                                40                                45

Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu
    50                                55                                60

Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr
    65                                70                                75                                80

Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val
    85                                90                                95

Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His
    100                               105                               110

Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg
    115                               120                               125

Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro
    130                               135                               140

Leu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys
    145                               150                               155                               160

Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Glu Ala Glu
    165                               170                               175

Thr Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala
    180                               185                               190

Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys
    195                               200                               205

Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu
    210                               215                               220

Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr
    225                               230                               235                               240

Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Gly Val Glu
    245                               250                               255

Asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val
    260                               265                               270

Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala
    275                               280                               285

```

<210> 45

<211> 879

<212> DNA

<213> Neisseria meningitidis ser. A

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (876)

<223> RNM00812

&lt;400&gt; 45

|   |     |
|---|-----|
| atg aat tac gca aaa gaa atc aat gcg tta aat aac agc ctt tcc gat | 48  |
| Met Asn Tyr Ala Lys Glu Ile Asn Ala Leu Asn Asn Ser Leu Ser Asp |     |
| 1 5 10 15   |     |
| ttg aaa ggc gac atc aac gtt tcg ttt gaa ttt ttt cca ccg aaa aac | 96  |
| Leu Lys Gly Asp Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn |     |
| 20 25 30  |     |
| gag caa atg gaa acg atg ctg tgg gat tcc atc cac cgt ctg caa acc | 144 |
| Glu Gln Met Glu Thr Met Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Gln Thr |     |
| 35 40 45  |     |
| ctg cat ccc aag ttc gta tcc gta acc tac ggc gca aac tcc ggc gaa | 192 |
| Leu His Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu |     |
| 50 55 60  |     |
| cgc gac cgc acg cac ggc atc gtc aaa cgc atc aaa cag gaa acc ggc | 240 |
| Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly |     |
| 65 70 75 80   |     |
| g gaa gca gca ccg cac ctg acc ggc atc gac gca tcc ccc gac gaa   | 288 |
| Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Ser Pro Asp Glu |     |
| 85 90 95  |     |
| ttg cgc caa atc gcc aaa gac tat tgg gac agc ggc atc cgc cgc att | 336 |
| Leu Arg Gln Ile Ala Lys Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile |     |
| 100 105 110   |     |
| gtc gcc ctg cgt ggc gac gag ccg ccc ggt tat gag aaa aaa ccg ttt | 384 |
| Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Pro Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe |     |
| 115 120 125   |     |
| tac gcc gaa gac ttg gtt aag cta tta cgc tcc gtc gcc gac ttc gac | 432 |
| Tyr Ala Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp |     |
| 130 135 140   |     |
| atc tct gtg gcg gca tat ccc gaa gtg cat ccc gaa gcc aaa tcc gca | 480 |
| Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala |     |
| 145 150 155 160   |     |
| aa gcc gat ctg att aat ctg aag cgc aaa atc gat gcg ggt gca aac  | 528 |
| Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn |     |
| 165 170 175   |     |
| cac gtc atc acc caa ttt ttc ttt gac gta gaa cgc tac ctg cgc ttc | 576 |
| His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Arg Tyr Leu Arg Phe |     |
| 180 185 190   |     |
| cgc gac cgc tgc gtg atg ttg ggt atc gat gtg gaa atc gtc cct ggt | 624 |
| Arg Asp Arg Cys Val Met Leu Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly |     |
| 195 200 205   |     |
| att ttg cct gtt acc aac ttc aag cag ctc ggc aaa atg gcg caa gta | 672 |
| Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gly Lys Met Ala Gln Val |     |
| 210 215 220   |     |
| acc aac gtc aaa atc cca agc tgg ctg tcg caa atg tat gaa ggt ttg | 720 |
| Thr Asn Val Lys Ile Pro Ser Trp Leu Ser Gln Met Tyr Glu Gly Leu |     |
| 225 230 235 240   |     |
| gac gac gac caa ggc acg cgc aac ctc gtc gcc gcc agt atc gcc atc | 768 |
| Asp Asp Asp Gln Gly Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Ile |     |



| 245 |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| gat | atg | gtc | aaa | gtc | ctg | tcc | cgc | gaa | ggc | gtg | aaa | gat | ttc | cac | ttc | 816 |  |  |  |  |
| Asp | Met | Val | Lys | Val | Leu | Ser | Arg | Glu | Gly | Val | Lys | Asp | Phe | His | Phe |     |  |  |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     | 270 |     |     |     |  |  |  |  |
| tac | acg | ctc | aac | cgc | agc | gag | ctg | act | tac | gcc | atc | tgc | cat | att | tta | 864 |  |  |  |  |
| Tyr | Thr | Leu | Asn | Arg | Ser | Glu | Leu | Thr | Tyr | Ala | Ile | Cys | His | Ile | Leu |     |  |  |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |  |  |  |  |
| ggc | gtg | cgc | cct | taa |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 879 |  |  |  |  |
| Gly | Val | Arg | Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
|     |     |     | 290 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 292

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Neisseria meningitidis ser. A

&lt;400&gt; 46

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| t   | Asn | Tyr | Ala | Lys | Glu | Ile | Asn | Ala | Leu | Asn | Asn | Ser | Leu | Ser | Asp |  |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
| Leu | Lys | Gly | Asp | Ile | Asn | Val | Ser | Phe | Glu | Phe | Phe | Pro | Pro | Lys | Asn |  |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| Glu | Gln | Met | Glu | Thr | Met | Leu | Trp | Asp | Ser | Ile | His | Arg | Leu | Gln | Thr |  |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Leu | His | Pro | Lys | Phe | Val | Ser | Val | Thr | Tyr | Gly | Ala | Asn | Ser | Gly | Glu |  |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
| Arg | Asp | Arg | Thr | His | Gly | Ile | Val | Lys | Arg | Ile | Lys | Gln | Glu | Thr | Gly |  |
|     | 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Leu | Glu | Ala | Ala | Pro | His | Leu | Thr | Gly | Ile | Asp | Ala | Ser | Pro | Asp | Glu |  |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
| Leu | Arg | Gln | Ile | Ala | Lys | Asp | Tyr | Trp | Asp | Ser | Gly | Ile | Arg | Arg | Ile |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| al  | Ala | Leu | Arg | Gly | Asp | Glu | Pro | Pro | Gly | Tyr | Glu | Lys | Lys | Pro | Phe |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| Tyr | Ala | Glu | Asp | Leu | Val | Lys | Leu | Leu | Arg | Ser | Val | Ala | Asp | Phe | Asp |  |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Ile | Ser | Val | Ala | Ala | Tyr | Pro | Glu | Val | His | Pro | Glu | Ala | Lys | Ser | Ala |  |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| Gln | Ala | Asp | Leu | Ile | Asn | Leu | Lys | Arg | Lys | Ile | Asp | Ala | Gly | Ala | Asn |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |  |
| His | Val | Ile | Thr | Gln | Phe | Phe | Phe | Asp | Val | Glu | Arg | Tyr | Leu | Arg | Phe |  |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Arg | Asp | Arg | Cys | Val | Met | Leu | Gly | Ile | Asp | Val | Glu | Ile | Val | Pro | Gly |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Ile | Leu | Pro | Val | Thr | Asn | Phe | Lys | Gln | Leu | Gly | Lys | Met | Ala | Gln | Val |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ser Trp Leu Ser Gln Met Tyr Glu Gly Leu  
 225 230 235 240  
 Asp Asp Asp Gln Gly Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Ile  
 245 250 255  
 Asp Met Val Lys Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
 260 265 270  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Ile Leu  
 275 280 285  
 Gly Val Arg Pro  
 290

<210> 47  
 <211> 849  
 <212> DNA  
 <213> Campylobacter jejuni

<20>  
 <21> CDS  
 <222> (1) .. (846)  
 <223> RCJ02911

<400> 47  
 atg tgt agt ttt tct ttt gaa gtt ttt cca cca aga aag gat gaa aat 48  
 Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn  
 1 5 10 15  
 atc aaa aat ctt cat gct atc tta gat gat tta ggg caa tta agc cct 96  
 Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro  
 20 25 30  
 aat ttt atc agc gta acc ttt gga gct gga ggc tct att aac tca caa 144  
 Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gln  
 35 40 45  
 aat act tta gaa gtt gca agc tta atc cag gaa gaa tat caa att cct 192  
 Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Glu Tyr Gln Ile Pro  
 50 55 60  
 agc ata gta cat tta cct tgc atc cat tct agt aaa gaa aaa atc act 240  
 Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80  
 cag ata ctt caa aaa tgc aaa gaa aaa aat ctt aat caa att ctt gcc 288  
 Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala  
 85 90 95  
 cta aga ggc gat ata tgt gaa aat tta aaa aaa agc aaa gat ttt tct 336  
 Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Lys Ser Lys Asp Phe Ser  
 100 105 110  
 tat gct agt gat tta att tct ttt ata aaa aaa caa gaa tac ttt gaa 384  
 Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu  
 115 120 125  
 att tat gcc gca tgc tat ccc gaa aaa cat aat gaa tct aaa aat ttc 432  
 Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe  
 130 135 140

atc gag gat ata cac cat ctt aaa act aag gta aat gca gga aca gat 480  
 Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp  
 145 150 155 160  
 aag ctc att act caa ctt ttt tac gat aat gaa gat ttt tat act ttt 528  
 Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe  
 165 170 175  
 aaa caa aat tgt gct tta gca gat att gac ata cct att tac gca ggt 576  
 Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly  
 180 185 190  
 att atg cct att act aac aaa aga cag gtt tta aaa att tct caa ctt 624  
 Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu  
 195 200 205  
 tgc gga gct aaa atc cct cct aaa ttt gtt aaa att tta gaa aaa tat 672  
 Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr  
 210 215 220  
 aat aat act ttg gct tta gaa gat gca ggt atc gcg tat gct tgc 720  
 Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys  
 225 230 235 240  
 gat caa att gtc gat tta atc aca agt ggt gta gat gga att cat ctt 768  
 Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu  
 245 250 255  
 tat act atg aat aaa tcc aaa gcg gct att aaa att tat gaa gct gta 816  
 Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val  
 260 265 270  
 aag cat ttg ctt aaa gaa gag ctt cat gct tag 849  
 Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala  
 275 280

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 282

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Campylobacter jejuni

&lt;400&gt; 48

Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn  
 1 5 10 15  
 Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro  
 20 25 30  
 Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gln  
 35 40 45  
 Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Glu Tyr Gln Ile Pro  
 50 55 60  
 Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80  
 Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala  
 85 90 95  
 Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Lys Ser Lys Asp Phe Ser

| 100  | 105 | 110 |
|--|-----|-----|
| Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu<br>115 120 125     |     |     |
| Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe<br>130 135 140     |     |     |
| Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp<br>145 150 155 160 |     |     |
| Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe<br>165 170 175     |     |     |
| Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly<br>180 185 190     |     |     |
| Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu<br>195 200 205     |     |     |
| Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr<br>210 215 220     |     |     |
| Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys<br>225 230 235 240     |     |     |
| Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu<br>245 250 255     |     |     |
| Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val<br>260 265 270     |     |     |
| Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala<br>275 280                                 |     |     |

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 852

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Lactococcus lactis

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(849)

&lt;223&gt; AAK05352

&lt;400&gt; 49

|   |    |
|---|----|
| atg aca agt aat tcc aaa att ctt tct ttt gaa gtt ttt cca cct aca | 48 |
| Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr |    |
| 1 5 10 15   |    |

|   |    |
|---|----|
| act caa att gga agt acc aac ttg gta aag acc ttg gat agc cta aga | 96 |
| Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg |    |
| 20 25 30  |    |

|   |     |
|---|-----|
| act ctc tcg cca gat ttt atc agt gta act tgt agt aac aat aat tat | 144 |
| Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr |     |
| 35 40 45  |     |

|   |     |
|---|-----|
| gat aat att gga gat aca act ata aag ttt gct gat tat gta aac aat | 192 |
| Asp Asn Ile Gly Asp Thr Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn |     |
| 50 55 60  |     |

|   |     |
|---|-----|
| aca cta gat att cca gcg gtt gct cat tta cct gcc gct tat tta gat | 240 |
| Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp |     |
| 65 70 75 80   |     |
| aaa gct caa gtg atc gaa att ttg gaa cgg tta aaa gat aaa caa atc | 288 |
| Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile |     |
| 85 90 95  |     |
| aaa aaa att ctt gct tta aga ggt gat atc agc gat gaa ccg atg aaa | 336 |
| Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys |     |
| 100 105 110   |     |
| gat gat ttt aaa ttt gca agt gat ttg gtt aaa ttt atc aaa gat tat | 384 |
| Asp Asp Phe Lys Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr |     |
| 115 120 125   |     |
| gat gat agt ttt gaa gtt tta ggt gct tgc tac ccc gat att cat ccc | 432 |
| Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro |     |
| 130 135 140   |     |
| gaa tca gta aat cga gtg agt gat ttt cat tat ctg aaa gaa aaa gta | 480 |
| Val Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val |     |
| 150 155 160   |     |
| gat gct ggt tgt gac aga tta atc acg caa cta ttt ttt gat aat gat | 528 |
| Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp |     |
| 165 170 175   |     |
| agt ttc tat gat ttt caa gaa cga tgc gca att gct gag ata aat act | 576 |
| Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr |     |
| 180 185 190   |     |
| ccg ata ttc gcc gga ata atg cca gta atc aat cga aat caa att ctt | 624 |
| Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu |     |
| 195 200 205   |     |
| cgt cta tta aaa aat tgt aat acg cca tta cca gca aaa ttc att aga | 672 |
| Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg |     |
| 210 215 220   |     |
| ata ctc gaa aaa tat gaa cat aat ctt atc gct tta agg gat gct gga | 720 |
| Ile Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly |     |
| 230 235 240   |     |
| att gct tac gcc atc gat caa atc gtt gat tta gta aca gag gat gtt | 768 |
| Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val |     |
| 245 250 255   |     |
| gct gga att cac ctc tat acg atg aat aat gca aat acg gca cac tcc | 816 |
| Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser |     |
| 260 265 270   |     |
| atc cat gct tca att tct tct tta ttt acc ttt tga                 | 852 |
| Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe                     |     |
| 275 280   |     |

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 283

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Lactococcus lactis.

&lt;400&gt; 50

Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr  
 1 5 10 15

Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg  
 20 25 30

Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr  
 35 40 45

Asp Asn Ile Gly Asp Thr Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn  
 50 55 60

Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp  
 65 70 75 80

Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile  
 85 90 95

Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys  
 100 105 110

Asp Phe Lys Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr  
 115 120 125

Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro  
 130 135 140

Glu Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val  
 145 150 155 160

Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp  
 165 170 175

Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr  
 180 185 190

Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu  
 195 200 205

Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg  
 210 215 220

Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly  
 225 230 235 240

Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val  
 245 250 255

Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser  
 260 265 270

Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe  
 275 280

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 891

&lt;212&gt; DNA

<213> *Prochlorococcus maritima*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

M/43126

MetF

&lt;222&gt; (1)..(888)

&lt;223&gt; RCK01602

&lt;400&gt; 51

|   |     |
|---|-----|
| ttg aaa tca aaa ctt cag caa act tta gaa aag aat tca aaa gta att | 48  |
| Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile |     |
| 1 5 10 15   |     |
| aca gca gaa tta atg ccg cca aga gga gga gac ccc gta aga tct ctt | 96  |
| Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu |     |
| 20 25 30  |     |
| aaa ata gca caa ctc ttg aga aat aag gtg cat gca gtt aat att aca | 144 |
| Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr |     |
| 35 40 45  |     |
| gac gga agt aga gca ata atg aga atg tgt agt tta gca atg tct aaa | 192 |
| Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys |     |
| 50 55 60  |     |
| cta tta cta gac aat ggg ata gaa cct ata atg cag atc tca tgt aga | 240 |
| Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg     |     |
| 70 75 80  |     |
| gat cgt aat aaa att gct tta caa tca gat att ctt gga gca aat gcc | 288 |
| Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala |     |
| 85 90 95  |     |
| tta gga att aaa aat att tta tgc att aca gga gat tct gta aaa gcc | 336 |
| Leu Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala |     |
| 100 105 110   |     |
| gga gat cag caa gaa aca aaa gcc gtt cat gaa ttt gag gca gta aga | 384 |
| Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg |     |
| 115 120 125   |     |
| tta tta aaa caa att caa tca ttc aat caa gga att gat cct act ttt | 432 |
| Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe |     |
| 130 135 140   |     |
| gaa caa ctt cca gac aaa agg act gaa att ttc tca ggt gcg gca gta | 480 |
| Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val |     |
| 150 155 160   |     |
| gat cca agt tgt cga aat caa aga agt tta aaa agt aga aca att aaa | 528 |
| Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys |     |
| 165 170 175   |     |
| aaa aaa gag gcc ggt gca aat ttc tta caa act caa ata gtt atg gat | 576 |
| Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp |     |
| 180 185 190   |     |
| aga aaa tgt tta gca gac ttt tgc aac gaa atc agt aat cca ctt gag | 624 |
| Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu |     |
| 195 200 205   |     |
| ata cca gtt att gca gga gta ttt ctt tta aaa tca tat aaa aat gct | 672 |
| Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala |     |
| 210 215 220   |     |
| ctt ttc ata aat aaa ttt gta cct gga gcg aat att cct gaa aat gtt | 720 |
| Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val |     |
| 225 230 235 240   |     |

tta aat cgt ctc aaa gat gca aaa aat cca ctt caa gaa gga ata tta 768  
 Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu  
                   245                                  250                                  255

att gct tca gag caa gct caa gat ttt att aat att gca gat gga att 816  
 Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile  
                   260                                  265                                  270

cat ctt atg gca gtc aaa tca gaa cat ctt atc cca gag ata ctt gaa 864  
 His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu  
                   275                                  280                                  285

aaa gct ggt ctc aat ctg gaa tgt taa 891  
 Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys  
                   290                                  295

<210> 52

<211> 296

<212> PRT

13> Prochlorococcus maritima

0> 52

Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile  
                   1                                  5                                  10                                  15

Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu  
                   20                                  25                                  30

Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr  
                   35                                  40                                  45

Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys  
                   50                                  55                                  60

Leu Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg  
                   65                                  70                                  75                                  80

Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala  
                   85                                  90                                  95

Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala  
                   100                                  105                                  110

Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg  
                   115                                  120                                  125

Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe  
                   130                                  135                                  140

Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val  
                   145                                  150                                  155                                  160

Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys  
                   165                                  170                                  175

Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp  
                   180                                  185                                  190

Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu  
                   195                                  200                                  205



Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala  
 210 215 220

Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val  
 225 230 235 240

Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu  
 245 250 255

Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile  
 260 265 270

His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu  
 275 280 285

Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys  
 290 295

<210> 53  
 <211> 1848  
 <212> DNA  
 <213> Bacillus stearothermophilus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (1845)  
 <223> RBE04103

<400> 53  
 gtg gga ttg ctg gat gag ttg aaa gag cgc att ctc atc gcc gac ggg 48  
 Val Gly Leu Leu Asp Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Ile Ala Asp Gly  
 1 5 10 15

gcg atg gga acg ctt tta tat tcg cac ggc att gac cgt tgt ttt gaa 96  
 Ala Met Gly Thr Leu Leu Tyr Ser His Gly Ile Asp Arg Cys Phe Glu  
 20 25 30

gaa ttg aat cta tcc aat cca gat gaa atc gtc cat att cat gaa gcg 144  
 Glu Leu Asn Leu Ser Asn Pro Asp Glu Ile Val His Ile His Glu Ala  
 35 40 45

atc gcc gcg ggc gcc gac gtc att cag acg aat aca tac ggc gcc 192  
 Tyr Ile Ala Ala Gly Ala Asp Val Ile Gln Thr Asn Thr Tyr Gly Ala  
 50 55 60

aac tat gtg aaa ctc gcc cgc tac ggc ctt gaa gat gag gtg ccg gcc 240  
 Asn Tyr Val Lys Leu Ala Arg Tyr Gly Leu Glu Asp Glu Val Pro Ala  
 65 70 75 80

atc aac cgc gcg gcg gtg cgg ctc gcc agg caa gcg gcg aac gga cgg 288  
 Ile Asn Arg Ala Ala Val Arg Leu Ala Arg Gln Ala Ala Asn Gly Arg  
 85 90 95

gca tac gtg ctc ggg acg atc ggg ggg ctg cgc acg tta aac aaa agc 336  
 Ala Tyr Val Leu Gly Thr Ile Gly Gly Leu Arg Thr Leu Asn Lys Ser  
 100 105 110

gtc gtc acg ctc gaa gaa gtg aag cgg acg ttt cgc gag cag ctg ttt 384  
 Val Val Thr Leu Glu Glu Val Lys Arg Thr Phe Arg Glu Gln Leu Phe  
 115 120 125

|   |      |
|---|------|
| gtc ctg ctc gct gaa ggg gtc gac ggc gtg ctg ctc gag acg tat tac | 432  |
| Val Leu Leu Ala Glu Gly Val Asp Gly Val Leu Leu Glu Thr Tyr Tyr |      |
| 130 135 140   |      |
| gat ttg gaa gag ttg gag acg gtg ctt gcc atc gcc cgc aaa gag acc | 480  |
| Asp Leu Glu Glu Leu Glu Thr Val Leu Ala Ile Ala Arg Lys Glu Thr |      |
| 145 150 155 160   |      |
| gac ttg ccg att atc gct cac gtc tcg ctc cat gaa gtc ggc gtc ttg | 528  |
| Asp Leu Pro Ile Ile Ala His Val Ser Leu His Glu Val Gly Val Leu |      |
| 165 170 175   |      |
| caa gat ggc acg ccg ctc gcg gac gcc ctt gcc cgc cta gag gcg ctc | 576  |
| Gln Asp Gly Thr Pro Leu Ala Asp Ala Leu Ala Arg Leu Glu Ala Leu |      |
| 180 185 190   |      |
| ggg gcc gat gtc gtc gga ctg aac tgt cgt ctc ggt cca tat cat atg | 624  |
| Gly Ala Asp Val Val Gly Leu Asn Cys Arg Leu Gly Pro Tyr His Met |      |
| 195 200 205   |      |
| ctt cgg tcg ctc gag gaa gtg ccg ctg cca aat cga gcg ttt ttg tcg | 672  |
| Arg Ser Leu Glu Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Ala Phe Leu Ser     |      |
| 210 215 220   |      |
| gcg tat ccg aac gcc agc ctt ccg gat tac cgc gat ggg cgg ctt gtc | 720  |
| Ala Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Pro Asp Tyr Arg Asp Gly Arg Leu Val |      |
| 225 230 235 240   |      |
| tat gag acg aac gct gaa tat ttc gag gaa acg gcc aaa gcg ttc cgc | 768  |
| Tyr Glu Thr Asn Ala Glu Tyr Phe Glu Glu Thr Ala Lys Ala Phe Arg |      |
| 245 250 255   |      |
| gac caa ggg gtg cgc ttg atc ggc ggg tgc tgc ggc acg acg ccg aaa | 816  |
| Asp Gln Gly Val Arg Leu Ile Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr Pro Lys |      |
| 260 265 270   |      |
| cat atc gaa gcg atg gca aaa gcg ctc tcc gac cga acg ccg gtg acg | 864  |
| His Ile Glu Ala Met Ala Lys Ala Leu Ser Asp Arg Thr Pro Val Thr |      |
| 275 280 285   |      |
| gaa aaa acg gtg aaa cgg cgc gcg gtg tct gta tca gtg caa gcg gag | 912  |
| Glu Lys Thr Val Lys Arg Arg Ala Val Ser Val Ser Val Gln Ala Glu |      |
| 290 295 300   |      |
| ggg ccc gcc cca tct ccc ctt ccc gag ctt gcc cgc acg cac cgc tcg | 960  |
| Arg Pro Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Leu Ala Arg Thr His Arg Ser |      |
| 305 310 315 320   |      |
| gtc att gtg gag ctg gat ccg ccg aaa aaa ttg ggg att gac aag ttt | 1008 |
| Val Ile Val Glu Leu Asp Pro Pro Lys Lys Leu Gly Ile Asp Lys Phe |      |
| 325 330 335   |      |
| ctt gcc ggg gcg aaa gcg ctc cat gac gcc ggc atc gat gcg ctg acg | 1056 |
| Leu Ala Gly Ala Lys Ala Leu His Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Thr |      |
| 340 345 350   |      |
| ttg gcc gac aac tcg ctc gcc acg ccg cgc atc agc aac gcc gct gtc | 1104 |
| Leu Ala Asp Asn Ser Leu Ala Thr Pro Arg Ile Ser Asn Ala Ala Val |      |
| 355 360 365   |      |
| gcc acg atc atc aag gag caa ctc ggc atc cgc ccg ctc gtg cat att | 1152 |
| Ala Thr Ile Ile Lys Glu Gln Leu Gly Ile Arg Pro Leu Val His Ile |      |
| 370 375 380   |      |

aca tgc cgc gat cgc aat ttg atc ggc ttg cag tgc cat ttg atg ggc 1200  
 Thr Cys Arg Asp Arg Asn Leu Ile Gly Leu Gln Ser His Leu Met Gly  
 385 390 395 400  
 ttg cat acg ctc ggc atc acc gat gtg ctc gcc att acc ggc gac ccg 1248  
 Leu His Thr Leu Gly Ile Thr Asp Val Leu Ala Ile Thr Gly Asp Pro  
 405 410 415  
 tgc aaa atc ggc gat ttt cca ggg gca acg tcc gtg tac gac tta tca 1296  
 Ser Lys Ile Gly Asp Phe Pro Gly Ala Thr Ser Val Tyr Asp Leu Ser  
 420 425 430  
 tgc ttc gat ttg atc cgc ttg atc cgc cag ttt aac gaa ggg ctg tgc 1344  
 Ser Phe Asp Leu Ile Arg Leu Ile Arg Gln Phe Asn Glu Gly Leu Ser  
 435 440 445  
 tac tgc ggc aaa ccg ctt ggg caa aaa acg aac ttc tgc atc ggc gct 1392  
 Tyr Ser Gly Lys Pro Leu Gly Gln Lys Thr Asn Phe Ser Ile Gly Ala  
 450 455 460  
 gttt aac ccg aac gtc cgc cat ttg gac aaa gcg gtc gag cgg atg 1440  
 Phe Asn Pro Asn Val Arg His Leu Asp Lys Ala Val Glu Arg Met  
 470 475 480  
 gag aaa aaa atc caa tgc ggc gcc cat tat ttc ttg acc cag ccg att 1488  
 Glu Lys Lys Ile Gln Cys Gly Ala His Tyr Phe Leu Thr Gln Pro Ile  
 485 490 495  
 tac tgc gaa gag aaa atc gtt gaa gtg cac gaa gcg acc aag cat ctt 1536  
 Tyr Ser Glu Glu Lys Ile Val Glu Val His Glu Ala Thr Lys His Leu  
 500 505 510  
 gac acg ccg att tac atc ggc att atg ccg ctt gtg agc gcg cgc aac 1584  
 Asp Thr Pro Ile Tyr Ile Gly Ile Met Pro Leu Val Ser Ala Arg Asn  
 515 520 525  
 gcc gac ttt ttg cat cat gaa gtg ccg ggc att acg ctc tct gac gag 1632  
 Ala Asp Phe Leu His His Glu Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu  
 530 535 540  
 att cgc gcc cgc atg gcc gcc tgc agc ggc gac ccg gtg caa gca gcc 1680  
 Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala  
 550 555 560  
 aag gaa ggc atc gct atc gcc aaa tgc ctc att gac gct gcg ttt gat 1728  
 Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp  
 565 570 575  
 ttg ttt aac ggc att tat ttg atc acg ccg ttc ttg cgc tac gac atg 1776  
 Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met  
 580 585 590  
 acg gtc gag ctt gtc cgc tac att cac gaa aaa gaa gcg gcc gcc aaa 1824  
 Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys  
 595 600 605  
 gaa agg aag gtt gtt cat ggc taa 1848  
 Glu Arg Lys Val Val His Gly  
 610 615

&lt;210&gt; 54

M/43126

MetF

&lt;211&gt; 615

&lt;212&gt; PRT

<213> *Bacillus stearothermophilus*

&lt;400&gt; 54

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Gly | Leu | Leu | Asp | Glu | Leu | Lys | Glu | Arg | Ile | Leu | Ile | Ala | Asp | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Met | Gly | Thr | Leu | Leu | Tyr | Ser | His | Gly | Ile | Asp | Arg | Cys | Phe | Glu |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Leu | Asn | Leu | Ser | Asn | Pro | Asp | Glu | Ile | Val | His | Ile | His | Glu | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Ile | Ala | Ala | Gly | Ala | Asp | Val | Ile | Gln | Thr | Asn | Thr | Tyr | Gly | Ala |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Tyr | Val | Lys | Leu | Ala | Arg | Tyr | Gly | Leu | Glu | Asp | Glu | Val | Pro | Ala |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Asn | Arg | Ala | Ala | Val | Arg | Leu | Ala | Arg | Gln | Ala | Ala | Asn | Gly | Arg |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Tyr | Val | Leu | Gly | Thr | Ile | Gly | Gly | Leu | Arg | Thr | Leu | Asn | Lys | Ser |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Val | Thr | Leu | Glu | Glu | Val | Lys | Arg | Thr | Phe | Arg | Glu | Gln | Leu | Phe |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Leu | Leu | Ala | Glu | Gly | Val | Asp | Gly | Val | Leu | Leu | Glu | Thr | Tyr | Tyr |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Glu | Glu | Leu | Glu | Thr | Val | Leu | Ala | Ile | Ala | Arg | Lys | Glu | Thr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Pro | Ile | Ile | Ala | His | Val | Ser | Leu | His | Glu | Val | Gly | Val | Leu |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Asp | Gly | Thr | Pro | Leu | Ala | Asp | Ala | Leu | Ala | Arg | Leu | Glu | Ala | Leu |
|     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ala | Asp | Val | Val | Gly | Leu | Asn | Cys | Arg | Leu | Gly | Pro | Tyr | His | Met |  |
|     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Arg | Ser | Leu | Glu | Glu | Val | Pro | Leu | Pro | Asn | Arg | Ala | Phe | Leu | Ser |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Tyr | Pro | Asn | Ala | Ser | Leu | Pro | Asp | Tyr | Arg | Asp | Gly | Arg | Leu | Val |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Glu | Thr | Asn | Ala | Glu | Tyr | Phe | Glu | Glu | Thr | Ala | Lys | Ala | Phe | Arg |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Gln | Gly | Val | Arg | Leu | Ile | Gly | Gly | Cys | Cys | Gly | Thr | Thr | Pro | Lys |
|     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Ile | Glu | Ala | Met | Ala | Lys | Ala | Leu | Ser | Asp | Arg | Thr | Pro | Val | Thr |
|     |     | 275 |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     | 285 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Lys | Thr | Val | Lys | Arg | Arg | Ala | Val | Ser | Val | Ser | Val | Gln | Ala | Glu |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |

Arg Pro Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Leu Ala Arg Thr His Arg Ser  
 305 310 315 320  
 Val Ile Val Glu Leu Asp Pro Pro Lys Lys Leu Gly Ile Asp Lys Phe  
 325 330 335  
 Leu Ala Gly Ala Lys Ala Leu His Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Thr  
 340 345 350  
 Leu Ala Asp Asn Ser Leu Ala Thr Pro Arg Ile Ser Asn Ala Ala Val  
 355 360 365  
 Ala Thr Ile Ile Lys Glu Gln Leu Gly Ile Arg Pro Leu Val His Ile  
 370 375 380  
 Thr Cys Arg Asp Arg Asn Leu Ile Gly Leu Gln Ser His Leu Met Gly  
 385 390 395 400  
 Leu His Thr Leu Gly Ile Thr Asp Val Leu Ala Ile Thr Gly Asp Pro  
 405 410 415  
 Lys Ile Gly Asp Phe Pro Gly Ala Thr Ser Val Tyr Asp Leu Ser  
 420 425 430  
 Ser Phe Asp Leu Ile Arg Leu Ile Arg Gln Phe Asn Glu Gly Leu Ser  
 435 440 445  
 Tyr Ser Gly Lys Pro Leu Gly Gln Lys Thr Asn Phe Ser Ile Gly Ala  
 450 455 460  
 Ala Phe Asn Pro Asn Val Arg His Leu Asp Lys Ala Val Glu Arg Met  
 465 470 475 480  
 Glu Lys Lys Ile Gln Cys Gly Ala His Tyr Phe Leu Thr Gln Pro Ile  
 485 490 495  
 Tyr Ser Glu Glu Lys Ile Val Glu Val His Glu Ala Thr Lys His Leu  
 500 505 510  
 Asp Thr Pro Ile Tyr Ile Gly Ile Met Pro Leu Val Ser Ala Arg Asn  
 515 520 525  
 Asp Phe Leu His His Glu Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu  
 530 535 540  
 Ile Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala  
 545 550 555 560  
 Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp  
 565 570 575  
 Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met  
 580 585 590  
 Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys  
 595 600 605  
 Glu Arg Lys Val Val His Gly  
 610 615

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 52

<212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz  
  
 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer  
  
 <400> 55  
 cccgggatcc gctagcggcg cgccggccgg cccggtgtga aataccgcac ag 52  
  
 <210> 56  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz  
  
 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer  
  
 <400> 56  
 tctagactcg agcggccgcg gccggccttt aaattgaaga cgaaagggcc tcg 53  
  
 <210> 57  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz  
  
 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer  
  
 <400> 57  
 gagatctaga cccggggatc cgctagcggg ctgctaaagg aagcgga 47  
  
 <210> 58  
 <211> 38  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz  
  
 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer  
  
 <400> 58  
 gagggcgcg ccgctagcgt gggcgaagaa ctccagca 38  
  
 <210> 59  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz  
  
 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer  
  
 <400> 59  
 gagagggcgg ccgcgcaaag tcccgttcg tgaa 34  
  
 <210> 60  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 60

gagagggcgg ccgctcaagt cggtaagcc acgc

34

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 140

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 61

tcgaatttaa atctcgagag gcctgacgtc gggcccggta ccacgcgtca tatgactagt 60  
 tcggacctag ggatatcgtc gacatcgatg ctcttctgcg ttaattaaca attgggatcc 120  
 tctagaccgc ggattttaa 140

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 140

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 62

gatcatttaa atcccgggctc tagaggatcc caattgttaa ttaacgcaga agagcatcga 60  
 tgtcgacgat atccctaggt ccgaactagt catatgacgc gtggtaccgg gcccgacgtc 120  
 aggctctcg agattttaa 140

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 63

gagagcggcc gccgatcctt tttaacccat cac

33

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 64

aggagcggcc gccatcggca ttttcttttg cg

32

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 5091

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

&lt;400&gt; 65

```

gccgcgactg ccttcgcgaa gccttgcccc gcggaaattt cctccaccga gttcgtgcac 60
acccttatgc caagcttctt tcaccctaaa ttcgagagat tggattctta ccgtggaaat 120
tcttcgcaaa aatcgctccc tgatcgccct tgcgacgttg gcgtcggtgc cgctgggtgc 180
gcttggttg accgacttga tcagcgcccg ctcgatttaa atctcgagag gctgacgtc 240
gggcccggta ccacgcgtca tatgactagt tcggacctag ggatatcgtc gacatcgatg 300
ctcttctgcg ttaattaaca attgggatcc tctagaccgg ggatttaaat cgctagcggg 360
ctgctaaagg aagcggaaca cgtagaaagc cagtccgcag aaacgggtgct gaccccggat 420
gaatgtcagc tactgggcta tctggacaag ggaaacgcga agcgcaaaga gaaagcaggt 480
agcttgcaag gggcttacat ggcgatagct agactgggcg gttttatgga cagcaagcga 540
accggaattg ccagctgggg cgccctctgg taagggtggg aagccctgca aagtaaactg 600
gatggctttc ttgcccgaag ggatctgagt gcgcagggga tcaagatctg atcaagagac 660
aggatgagga tcgtttcgca tgattgaaca agatggattg cacgcagggt ctccggccgc 720
ttgggtggag aggctattcg gctatgactg ggcaacaacag acaatcggct gctctgatg 780
cgccgtgttc cggctgtcag cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc 840
cggtgccctg aatgaactgc aggacgaggg agcgcggtta tcgtggctgg ccacgacggg 900
cgctccttgc gcagctgtgc tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt 960
gcgaagtgc ccggggcagg atctcctgtc atctcacctt gctcctgccc agaaagtatc 1020
gatggctgc gatgcaatgc ggcggtgca tacgcttgat ccggctacct gccattcga 1080
ccaagcg aaacatcgca tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg gtcttgtcga 1140
tcaggatgat ctggacgaag agcatcaggg gctcgccca gccgaactgt tcgccaggct 1200
caaggcgcg atgcccgcg gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgcc 1260
gaatatcatg gtggaaaatg gccgcttttc tggattcctc gactgtggcc ggctgggtgt 1320
ggcggaaccg tatcaggaca tagcgttggc taccgctgat attgctgaag agcttggcgg 1380
cgaatgggct gaccgcttcc tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgat cgcagcgcat 1440
cgcttctat cgcttcttg acgagttctt ctgagcggga ctctggggtt cgaaatgacc 1500
gaccaagcga cgcccaacct gccatcacga gatttcgatt ccaccgccgc cttctatgaa 1560
aggttgggct tcggaatcgt tttccgggac gccggctgga tgatcctcca gcgcggggat 1620
ctcatgctgg agttcttcgc ccacgctagc ggcgcccggt ccggcccggg gtgaaatacc 1680
gcacagatgc tcggctcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat 1800
ctcgtgcgc tcggctcgttc ggataaacgc aggaagaac atgtgagcaa aaggccagca 1860
acgggttatcc aacgtaaaa aggcgcggtt gctggcggtt tccataggc tccgcccccc 1920
tgacgagcat caaaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaacccga caggactata 1980
aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgcc 2040
gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc 2100
acgctgtagg tatctcagtt cgtgttaggt gctgcgctt atccgtaac tatcgtcttg agtccaacct 2220
ccccccggt taagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag 2280
atgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct acactagaag 2340
gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag 2400
ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtgg ttttttgttt gcaagcagca 2460
gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga 2520
cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttgggtc atgagattat caaaaaggat 2580
cttcacctag atccttttaa aggcgggccc cggccgcgca aagtcccgtc tcgtgaaaat 2640
tttcgtgccg cgtgattttc cgccaaaaac tttaacgaac gttcgttata atggtgtcat 2700
gaccttcacg acgaagtact aaaattggcc cgaatcatca gctatggatc tctctgatgt 2760
cgcgctggag tccgacgcgc tcgatgctgc cgtcgattta gctatggatc tctctgatgt 2760
ccgagctctc gatacgacgg acgcgccagc atcacgagac tgggccagtg ccgcgagcga 2880
cctagaaact ctgctggcgg atcttgagga gctggctgac gagctgcgtg ctccggccag 2940
gccaggagga cgcacagtag tggaggatgc aatcagttgc gcctactgcg gtggcctgat 3000
tcttccccgg cctgaccgcg gaggacggcg cgcaaaatat tgctcagatg cgtgtcgtgc 3060
cgagccagc cgcgagcgcg ccaacaaacg ccacgccgag gagctggagg cggctaggtc 3120
gcaaatggcg ctggaaagtgc gtcccccgag cgaaattttg gccatggtcg tcacagagct 3180
ggaagcggca gcgagaatta tcgcgatcgt ggcggtgccc gcaggcatga caaacatcgt 3240
aaatgccggg tttcgtgtgc cgtggccgcc caggcgtgtg cagcgccgcc accacctgca 3300
ccgaatcggc agcagcgtcg cgcgtcgaag aagcgcacag gcgcaagaa gcgataagct 3360
gcacgaatac ctgaaaaatg ttgaacgccc cgtgagcggt aactcacagg gcgtcggcta 3420
acccccagtc caaacctggg agaaagcgct caaaaatgac tctagcggat tcacgagaca 3480

```

M/43126

MetF



```

ttgacacacc ggcctggaaa ttttccgctg atctgttcga caccatcccc gagctcgcgc 3540
tgcgatcacg tggctggacg agcgaagacc gccgcgaatt cctcgcctcac ctgggcagag 3600
aaaattttcca gggcagcaag acccgcgact tcgccagcgc ttggatcaaa gacccggaca 3660
cggagaaaaca cagccgaagt tataccgagt tgggtcaaaa tcgcttgccc ggtgccagta 3720
tgttgctctg acgcacgcgc agcacgcagc cgtgcttgctc ctggacattg atgtgccgag 3780
ccaccaggcc ggcgggaaaa tcgagcacgt aaaccccagag gtctacgcga ttttggagcg 3840
ctgggcacgc ctggaaaaaag cgcagcttg gatcggcgtg aatccactga gcgggaaatg 3900
ccagctcatc tggctcattg atccgggtga tgccgcagca ggcattgagca gccgaatat 3960
gcgcctgctg gctgcaacga ccgaggaaat gacccgcgtt ttcggcgctg accaggcttt 4020
ttcacatagg ctgagccgtg gccactgcac tctccgacga tcccagccgt accgctggca 4080
tgcccagcac aatcgcgtgg atcgcctagc tgatcttatg gaggttgctc gcatgatctc 4140
aggcacagaa aaacctaaaa aacgctatga gcaggagttt tctagcggac gggcacgtat 4200
cgaagcggca agaaaagcca ctgcggaagc aaaagcactt gccacgcttg aagcaagcct 4260
gccgagcgc gctgaagcgt ctggagagct gatcgacggc gtccgtgtcc tctggactgc 4320
tccagggcgt gccgccgtg atgagacggc ttttcgccac gctttgactg tgggatacca 4380
gttaaaagcg gctggtgagc gcctaaaaa caccaagggt catcgagcct acgagcgtgc 4440
ctacaccgtc gctcaggcgg tcggaggagg cgtgagcct gatctgccgc cggactgtga 4500
ccgccagacg gattggcgcg gacgtgtgcg cggctacgtc gctaaaggcc agccagtcgt 4560
ccctgctcgt cagacagaga cgcagagcca gccgaggcga aaagctctgg ccactatggg 4620
aagacgtggc ggtaaaaagg ccgcagaacg ctggaaagac ccaaacagtg agtacgcccg 4680
agcacagcga gaaaaactag ctaagtccag tcaacgacaa gctaggaaag ctaaaggaaa 4740
gacctgacc attgcaggtt ggtttatgac tgttgaggga gagactggct cgtggccgac 4800
caaatgaa gctatgtctg aatttagcgt gtcacgtcag accgtgaata gagcacttaa 4860
ctgcggg cattgaactt ccacgaggac gccgaaagct tccagtaaa tgtgccatct 4920
cgtaggcaga aaacgggttcc ccgtagggt cctctctctg gcctcctttc taggtcgggc 4980
tgattgctct tgaagctctc taggggggt cacaccatag gcagataacg ttccccaccg 5040
gctcgcctcg taagcgcaca aggactgctc ccaaagatct tcaaagccac t 5091

```

<210> 66

<211> 4323

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 66

```

tctctcagcg tatggttgct gcctgagctg tagttgcctt catcgatgaa ctgctgtaca 60
ttttgatacg tttttccgtc accgtcaaag attgatttat aatcctctac accgttgatg 120
ttcaaagagc tgtctgatgc tgatacgta actgtgcag ttgtcagtg ttgtttgccg 180
atgtttac cggagaaatc agtgtagaat aaacggattt ttccgtcaga tgtaaatgtg 240
gaacctg accattcttg tgtttggctt tttaggatag aatcattttg atcgaatttg 300
cgctgtctt taaagacgcg gccagcgttt ttccagctgt caatagaagt ttcgccgact 360
ttttgataga acatgtaaat cgatgtgtca tccgcatttt taggatctcc ggctaattgca 420
aagacgatgt ggtagccgtg atagtttgcg acagtgccgt cagcgttttg taatggccag 480
ctgtcccaaa cgtccaggcc ttttgcagaa gagatatttt taattgtgga cgaatcaaat 540
tcagaaaactt gatatttttc atttttttgc tgttcaggga tttgcagcat atcatggcgt 600
gtaatatggg aaatgccgta tgtttcttta tatggctttt ggttcgtttc tttcgcaaac 660
gcttgagttg cgcctcctgc cagcagtgcg gtatgaaagg ttaatactgt tgcttgtttt 720
gcaaactttt tgatgttcat cgttcatgtc tcttttttta tgtactgtgt tagcggctctg 780
cttcttccag cctcctgtt tgaagatggc aagttagtta cgcacaataa aaaaagacct 840
aaaatatgta aggggtgacg ccaaagtata cactttgccc tttacacatt ttaggtcttg 900
cctgctttat cagtaacaaa cccgcgcgat ttacttttcg acctcattct attagactct 960
cgtttgatt gcaactggtc tattttcctc ttttgtttga tagaaaatca taaaaggatt 1020
tgcagactac gggcctaaag aactaaaaaa tctatctgtt tcttttcatt ctctgtattt 1080
tttatagttt ctgttgcatg ggcataaagt tgccttttta atcacaattc agaaaatatc 1140
ataatatctc atttcaacta ataatagtga acggcaggta tatgtgatgg gttaaaaagg 1200
atcggcggcc gctcgattta aatctcgaga ggcctgacgt cgggcccggg accacgcgtc 1260
atatgactag ttcggacctc gggatatcgt cgacatcgat gctcttctgc gttaattaaac 1320
aattgggac cctagacccc gggattttaa tcgctagcgg gctgctaaag gaagcggaac 1380
acgtagaaag ccagtcgcga gaaacgggtg tgaccccgga tgaatgtcag ctactgggct 1440

```

M/43126

MetF

|             |             |             |            |            |            |      |
|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| atctggacaa  | gggaaaacgc  | aagcgcaaag  | agaaagcagg | tagcttgacg | tgggcttaca | 1500 |
| tggcgatagc  | tagactgggc  | ggttttatgg  | acagcaagcg | aaccggaatt | gccagctggg | 1560 |
| gcgccctctg  | gtaagggttg  | gaagccctgc  | aaagtaaact | ggatggcttt | cttgccgcca | 1620 |
| aggatctgat  | ggcgagggg   | atcaagatct  | gatcaagaga | caggatgagg | atcgtttcgc | 1680 |
| atgattgaac  | aagatggatt  | gcacgcaggt  | tctccggccg | cttgggtgga | gaggctattc | 1740 |
| ggctatgact  | gggcacaaca  | gacaatcggc  | tgtctctgat | ccgccgtgtt | ccggctgtca | 1800 |
| cgcagggggc  | gcccggttct  | ttttgtcaag  | accgacctgt | ccggtgccct | gaatgaactg | 1860 |
| caggacgagg  | cagcgcggtc  | atcgtggctg  | gccacgacgg | gcgttccttg | cgcagctgtg | 1920 |
| ctcgacgttg  | tactgaagc   | gggaagggac  | tggctgctat | tgggcgaagt | gccggggcag | 1980 |
| gatctcctgt  | catctcacct  | tgtctctgcc  | gagaaagtat | ccatcatggc | tgatgcaatg | 2040 |
| cggcggctgc  | atacgcttga  | tccggctacc  | tgtccattcg | accaccaagc | gaaacatcgc | 2100 |
| atcgagcgag  | cacgtactcg  | gatggaagcc  | ggctctgtcg | atcaggatga | tctggacgaa | 2160 |
| gagcatcagg  | ggctcgcgcc  | agccgaactg  | ttcgccaggc | tcaaggcgcg | catgcccagc | 2220 |
| ggcgaggatc  | tcgtcgtgac  | ccatggcgat  | gcctgcttgc | cgaatatcat | ggtggaaaat | 2280 |
| ggccgctttt  | ctggattcat  | cgactgtggc  | cggctgggtg | tggcggaccg | ctatcaggac | 2340 |
| atagcgttgg  | ctaccogtga  | tattgtcgaa  | gagcttggcg | gcgaatgggc | tgaccgcttc | 2400 |
| ctcgtgcttt  | acgggtatcgc | cgtcccgat   | tgcgacgca  | tcgccttcta | tcgccttctt | 2460 |
| gacgagttct  | tctgagcggg  | actctgggtt  | tcgaaatgac | cgaccaagcg | acgcccacc  | 2520 |
| tgccatcacg  | agatttccgat | tccaccgccg  | ccttctatga | aaggttgggc | ttcggaatcg | 2580 |
| ttttccggga  | cgccggctgg  | atgatcctcc  | agcgcgggga | tctcatgctg | gagttcttcg | 2640 |
| cccacgctag  | cggcgcgccg  | gccggcccgg  | tgtgaaatac | cgcacagatg | cgtaaggaga | 2700 |
| taccgca     | tcaggcgctc  | ttccgcttcc  | tcgctcactg | actcgctgcg | ctcggtcggt | 2760 |
| ctgcggc     | gagcggtatc  | agctcactca  | aaggcggtaa | tacggttatc | cacagaatca | 2820 |
| tgataacg    | caggaaagaa  | catgtgagca  | aaaggccagc | aaaaggccag | gaaccgtaaa | 2880 |
| aaggccgcgt  | tgctggcggt  | tttccatagg  | ctccgcccc  | ctgacgagca | tcacaaaaat | 2940 |
| cgacgctcaa  | gtcagaggtg  | gcgaaaccgg  | acaggactat | aaagatacca | ggcgtttccc | 3000 |
| cctggaagct  | ccctcgtgcg  | ctctcctggt  | ccgaccctgc | cgtttaccgg | atacctgtcc | 3060 |
| gcctttctcc  | cttcgggaag  | cgtggcgctt  | tctcatagct | cacgctgtag | gtatctcagt | 3120 |
| tcggtgtagg  | tcgttcgctc  | caagctgggc  | tgtgtgcacg | aacccccgt  | tcagcccagc | 3180 |
| cgtgcgcct   | tatccggtaa  | ctatcgtcct  | gagtccaacc | cggtaagaca | cgacttatcg | 3240 |
| ccactggcag  | cagccactgg  | taacaggatt  | agcagagcga | ggtatgtagg | cggtgctaca | 3300 |
| gagttcttga  | agtgggtggc  | taactacggc  | tacactagaa | ggacagtatt | tggtatctgc | 3360 |
| gctctgctga  | agccagttac  | cttcggaaaa  | agagttggta | gctcttgatc | cggcaaaaaa | 3420 |
| accaccgctg  | gtagcggttg  | tttttttggt  | tgcaagcagc | agattacgcg | cagaaaaaaa | 3480 |
| ggatctcaag  | aagatccttt  | gatcttttct  | acggggtctg | acgctcagtg | gaacgaaaaa | 3540 |
| tcacgttaag  | ggattttggg  | catgagatta  | tcaaaaagga | tcttcacctt | gatcctttta | 3600 |
| aaggccggcc  | gcggccgcca  | tcggcatttt  | cttttgcggt | tttatttggt | aactgttaat | 3660 |
| tgtccttggt  | caaggatgct  | gtctttgaca  | acagatgttt | tcttgccctt | gatgttcagc | 3720 |
| aggaagctcg  | gcgcaaacgt  | tgattgtttg  | tctgcgtaga | atcctctggt | tgtcatatag | 3780 |
| cttgtaaatca | cgacattggt  | tccttttcgct | tgaggtagag | cgaagtgtga | gtaagtaaa  | 3840 |
| gttacatcgt  | taggatcaag  | atccattttt  | aacacaaggc | cagttttggt | cagcggcttg | 3900 |
| ctggggccag  | ttaaagaatt  | agaaacataa  | ccaagcatgt | aaatatcggt | agacgtaatg | 3960 |
| ctcaatcg    | tcatttttga  | tccgcgggag  | tcagtgaaca | ggtagcattt | gccgttcatt | 4020 |
| caagacgt    | tcgcgcgttc  | aatttcatct  | gttactgtgt | tagatgcaat | cagcggtttc | 4080 |
| atcacttttt  | tcagtgtgta  | atcatcggtt  | agctcaatca | taccgagagc | gccgtttgct | 4140 |
| aactcagccg  | tgcgtttttt  | atcgctttgc  | agaagttttt | gactttcttg | acggaagaat | 4200 |
| gatgtgcttt  | tgccatagta  | tgctttgtta  | aataaagatt | cttcgccttg | gtagccatct | 4260 |
| tcagttccag  | tgtttgcttc  | aaataactaag | tatttgtggc | ctttatcttc | tacgtagtga | 4320 |
| gga         |             |             |            |            |            | 4323 |